

WANDÉR LUIZ WATZKO

ESTUDO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DE C4A,  
C4B, BF E C3 DO SISTEMA COMPLEMENTO EM  
ARTRITE REUMATÓIDE

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna — do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

CURITIBA

1993

ORIENTADORA:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. IARA JOSE TABORDA DE  
MESSIAS. Prof<sup>ª</sup>. do Departamento de  
Patologia Médica da Universidade Federal do  
Paraná.

Trabalho realizado na Disciplina de Reumatologia, Departamento de Clínica Médica, e no Laboratório de Immunopatologia, Departamento de Patologia Médica / Hospital de Clínicas, da Universidade Federal do Paraná. Com colaboração do Instituto de Microbiologia Médica e Higiene da Universidade de Colonia, Alemanha.

Aos meus Pais e irmãos, que comigo sempre  
estão com carinho e harmonia.

## AGRADECIMENTOS:

- À Profª. Drª. IARA JOSE TABORDA DE MESSIAS, pela orientação objetiva e contínuo estímulo na realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. ACIR RACHID, Prof. Titular aposentado do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio na escolha do tema e interesse na conclusão do estudo.
- Ao Prof. Dr. JOÃO MANUEL CARDOSO MARTINS, Prof. responsável pela Disciplina de Reumatologia da Universidade Católica do Paraná, pelo exemplo e influência definitiva na minha formação médica.
- Ao Prof. Dr. ROBERTO PIRAJÁ MORITZ ARAUJO, Coordenador do Mestrado de Medicina Interna da Universidade Federal do Paraná, pelo incentivo e apoio recebidos.
- Ao Prof. GOTTFRIED MAUFF do Instituto de Microbiologia Médica da Universidade de Colonia, Alemanha; pela colaboração na tipagem de C4 e pela provisão de reagentes importados utilizados na elaboração deste trabalho.
- Ao Dr. DIETER MOHREN e MARTINA BRENDEN do Instituto de Microbiologia Médica da Universidade de Colonia, Alemanha; pelo auxílio na análise estatística de C4.
- Aos pacientes reumatóides e controles sadios, os quais permitiram a realização deste estudo.
- À todos funcionários do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas, demais médicos residentes, estudantes e todas pessoas que auxiliaram direta ou indiretamente na seleção dos pacientes e controles, coleta do material e aliquotagem das amostras.

viii.....	LISTA DE ABREVIATURAS
ix.....	LISTA DE FIGURAS
x.....	LISTA DE QUADROS
xi.....	LISTA DE FOTOS
xii.....	LISTA DE GRÁFICOS
xiii.....	LISTA DE TABELAS
xvi.....	LISTA DE ANEXOS
xvii.....	RESUMO
01.....	1.INTRODUÇÃO
02.....	1.1.CONSIDERAÇÕES GERAIS
03.....	1.2.SISTEMA COMPLEMENTO
06.....	1.2.1.Vias de Ativação do Complemento
06.....	1.2.1.1.Via Clássica
07.....	1.2.1.2.Via Alternativa
08.....	1.2.2.Sequência Final Efetora e Consequências Biológicas da Ativação
10.....	1.2.3.Anormalidades Hereditárias do Complemento
11.....	1.2.4.Aspectos Imunopatológicos do Complemento
12.....	1.2.5.Polimorfismo Genético das Proteínas do Complemento
13.....	1.2.5.1.Fator B (BF)
15.....	1.2.5.2.C3
17.....	1.2.5.3.C4
22.....	1.3.ARTRITE REUMATÓIDE (AR)
23.....	1.3.1.Etiopatogenia
25.....	1.3.2.Manifestações Clínicas
26.....	1.3.3.Alterações Laboratoriais e Radiológicas
27.....	1.3.4.Diagnóstico
28.....	1.3.5Curso Clínico e Prognóstico
28.....	1.3.6.Tratamento
29.....	1.4.O SISTEMA COMPLEMENTO NA AR
32.....	2.OBJETIVO E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

33.....	3.MATERIAL E MÉTODOS
33.....	3.1.Pacientes
34.....	3.2.Controles
35.....	3.3.Plasma e Soro
35.....	3.4.Tipagem do Fator B (BF)
36.....	3.5.Tipagem de C3
37.....	3.6.Tipagem de C4
38.....	3.7.Análise Estatística
39.....	4.RESULTADOS
39.....	4.1.Fator B (BF)
48.....	4.2.C3
50.....	4.3.C4
66.....	5.DISSCUSSÃO
74.....	6.CONCLUSÕES
75.....	7.ANEXOS
90.....	8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AR.....Artrite Reumatóide
- ARA.....Associação Americana de Reumatologia
- ARJ.....Artrite Reumatóide Juvenil
- BF.....Fator B
- C.....Complemento
- C2.....2º Componente do Complemento
- C3.....3º Componente do Complemento
- C4.....4º Componente do Complemento
- EDTA...Ácido etileno diamino tetra acético
- HLA.....Antígeno Leucocitário Humano
- LES.....Lupus Eritematoso Sistêmico
- MHC.....Complexo Principal de Histocompatibilidade
- PBS.....Tampão Salino com Fosfato
- RR.....Risco Relativo
- Tris.....Hidroximetil amino metano



04.....FIGURA.1.

- Sequência da ativação das vias clássica e alternativa do Sistema Complemento.

04.....FIGURA.2.

- O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) no Cromossoma 6.

14.....FIGURA.3.

- Alótipos comuns e raros de BF

16.....FIGURA.4.

- Alótipos comuns e raros de C3

18.....FIGURA.5.

- Distâncias relativas de migração dos alótipos de C4A e C4B

20.....FIGURA.6.

- Expressão haplotípica de C4

pág.

## LISTA DE QUADROS

### 05.....QUADRO.1.

- Atividades biológicas do Sistema Complemento

### 10.....QUADRO.2.

- Doenças associadas a deficiências do Complemento

### 19.....QUADRO.3.

- Alelos de C3, BF e C4 associados com doenças

### 54.....QUADRO.4.

- Associações observadas no presente estudo

40.....FOTO.1.

- Alótipos de BF detectados através de eletroforese de alta voltagem em gel de agarose e imunofixação.

49.....FOTO.2.

- Alótipos de C3 detectados através de eletroforese de alta voltagem em gel de agarose.

52.....FOTO.3.

- Alótipos de C4A e C4B observadas após eletroforese em gel de agarose seguida de imunofixação, com soros tratados com neuraminidase e neuraminidase + carboxipeptidase.

53.....FOTO.4.

- Alótipos de C4A e C4B observados após eletroforese prolongada seguida de imunofixação, utilizando-se soros tratados com neuraminidase e carboxipeptidase.

61.....GRÁFICO.1.

- Alelos de C4 associados a AR quando comparados com controles normais

62.....GRÁFICO.2.

- Alelos de BF e C4 associados a classe funcional da AR

63.....GRÁFICO.3.

- Deficiência de C4A em pacientes com AR apresentando comprometimento extra-articular e deformidades

64.....GRÁFICO.4.

- Deficiência de C4A e C4B em pacientes com história familiar de AR

65.....GRÁFICO.4.

- Alelos de C4 associados a AR, quanto ao uso de drogas de ação lenta.

## 41.....TABELA.I.

- Frequências gênicas e comparação da distribuição alotípica de BF entre pacientes com AR e controles normais.

## 41.....TABELA.II.

- Frequências gênicas e comparação da distribuição alotípica de C3 entre pacientes com AR e controles normais.

## 42.....TABELA.III.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR classe funcional I e II, e controles normais.

## 42.....TABELA.IV.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR classe funcional III e IV, e controles normais.

## 43.....TABELA.V.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR apresentando comprometimento extra-articular/deformidades, e controles normais.

## 43.....TABELA.VI.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR sem comprometimento extra-articular /deformidades, e controles normais.

## 44.....TABELA.VII.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR apresentando história familiar, e controles normais.

44.....TABELA.VIII.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR sem história familiar, e controles normais.

45.....TABELA.IX.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR que usaram drogas de ação lenta, e controles normais.

45.....TABELA.X.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR que não usaram drogas de ação lenta, e controles normais.

46.....TABELA.XI.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR classe funcional I e II, e pacientes com AR classe funcional III e IV.

46.....TABELA.XII.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR apresentando comprometimento extra-articular/deformidades, e pacientes sem comprometimento extra-articular/deformidades.

47.....TABELA.XIII.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR apresentando história familiar, e pacientes sem história familiar de AR.

47.....TABELA.XIV.

- Comparação da distribuição alotípica de BF e C3 entre pacientes com AR que usaram drogas de ação lenta, e pacientes que não usaram drogas de ação lenta.

55.....TABELA.XV.

- Alótipos de C4A e C4B observados nos pacientes com AR e nos controles normais.

56.....TABELA.XVI.

- Frequências gênicas de C4A\* e de C4B\* em pacientes com AR e controles, e comparação da distribuição alotípica entre ambos os grupos.

57.....TABELA.XVII.

- Frequências gênicas de C4A\* e de C4B\*, e comparação da distribuição alotípica entre pacientes com AR apresentando comprometimento extra-articular / deformidades e pacientes sem comprometimento extra-articular/deformidades.

58.....TABELA.XVIII.

- Frequências gênicas de C4A\* e de C4B\*, e comparação da distribuição alotípica entre pacientes com AR sem história familiar e pacientes com história familiar de AR.

59.....TABELA.XIX.

- Frequências gênicas de C4A\* e de C4B\*, e comparação da distribuição alotípica entre pacientes com AR que usaram drogas de ação lenta e pacientes que não usaram drogas de ação lenta.

60.....TABELA.XX.

- Frequências gênicas de C4A\* e de C4B\*, e comparação da distribuição alotípica entre pacientes com AR classe funcional I e II e pacientes classe funcional III e IV.

pág.

## LISTA DE ANEXOS

### 76.....ANEXO.1.

- Protocolo para a seleção dos pacientes

### 78.....ANEXO.2.

- Dados referentes aos pacientes (sexo, idade, registro, naturalidade, procedência, etnia, condição sócio-econômica e profissão)

### 80.....ANEXO.3.

- Dados referentes aos pacientes (idade, sexo, idade ao diagnóstico, duração da doença, escolaridade, antecedentes familiares, forma clínica e tratamento)

### 82.....ANEXO.4.

- Dados referentes aos pacientes (idade, comprometimento extra-articular / deformidades, e tratamento)

### 84.....ANEXO.5.

- Dados referentes aos controles (sexo; idade; etnia; profissão; alótipos de C3, BF, C4A e C4B)

### 86.....ANEXO.6.

- Dados referentes aos pacientes (sexo; idade; profissão; etnia; idade ao diagnóstico; duração da doença; alótipos de C3, BF, C4A e C4B)

### 88.....ANEXO.7.

- Dados referentes aos pacientes e aos controles (sexo; idade; etnia; idade ao diagnóstico; forma clínica; antecedentes familiares; duração da doença; distribuição dos alótipos de C3, BF, C4A e C4B).



## RESUMO

A Artrite Reumatóide é uma doença sistêmica de origem desconhecida que cursa com a participação de fatores genéticos, ambientais e hormonais na sua etiopatogênese. Visando analisar a suscetibilidade genética conferida pelo Complemento na AR em pacientes brasileiros, estudou-se o polimorfismo genético de BF, C3 e C4 numa população de 61 pacientes com AR soro-positiva, todos preenchendo os critérios de diagnóstico da Associação America de Reumatologia, e 61 controles normais pareados com os pacientes de acordo com o sexo e a origem étnica. Cinquenta pacientes com AR eram do sexo feminino (81,9%) e 11 eram do sexo masculino (18,1%). A variação etária foi de 20 a 75 anos, com uma idade média de 47,3 anos. O início da doença envolveu pacientes dos 18 aos 65 anos, com uma idade média de 39,04 anos. O tempo de duração da doença foi de 1 a 30 anos, com um tempo médio de 8,21 anos. Dezesseis pacientes (26,23%) apresentavam história familiar de AR. As variantes polimórficas de BF, C3 e C4 foram detectadas através de eletroforese em gel de agarose, sob alta voltagem e refrigeração contínua. BF e C4 foram visualizados após imunofixação. Os resultados demonstraram uma associação negativa envolvendo o alótipo BF SF nos pacientes com AR classe funcional III e IV, quando comparados com os pacientes classe funcional I e II ( $p=0,0432$ ). Não foi verificada nenhuma associação estatisticamente significativa com relação aos alelos de C3. A distribuição dos alótipos de C4A e C4B apresentaram um polimorfismo bastante diversificado. Em relação ao C4A verificou-se uma associação positiva envolvendo o alelo C4A\*Q0 nos pacientes com comprometimento extra-articular/deformidades ( $p=0,0214$ ), nos pacientes com história familiar de AR ( $p=0,0166$ ), e nos pacientes que não usaram drogas de ação lenta ( $p=0,0166$ ). Observou-se também, uma diminuição de C4\*A2 nos pacientes que usaram drogas de ação lenta ( $p=0,0108$ ). Em relação ao locus C4B observou-se uma diminuição de C4\*B2 ( $p=0,0396$ ) e um aumento significativo do alelo nulo de C4B (C4B\*Q0) ( $p=0,0396$ ) nos pacientes artríticos, quando comparados com os controles normais. A diminuição de C4\*B2 foi verificada também, nos pacientes classe funcional III e IV ( $p=0,0460$ ), quando comparados com os pacientes classe funcional I e II. Analisando-se os resultados aqui obtidos, podemos concluir que a presença do alótipo BF SF em AR sugere um caráter de proteção ao desenvolvimento de formas clínicas mais incapacitantes da doença. A presença do alelo C4\*A2 em AR sugere um caráter protetor, e possivelmente uma melhor resposta a terapêutica convencional no tratamento da doença. A diminuição significativa de C4\*B2 nos pacientes, sugere um papel protetor deste alelo no desenvolvimento da doença, e de suas formas clínicas mais incapacitantes. O aumento significativo do alelo nulo C4A\*Q0 em determinados grupos de pacientes, sugere que a deficiência de C4A determina um caráter importante de predisposição familiar da doença, assim como, uma predisposição maior ao desenvolvimento de comprometimento extra-articular/deformidades; além de uma melhor resposta a terapêutica convencional no tratamento da doença, em determinado sub-grupo de pacientes. O aumento significativo do alelo nulo C4B\*Q0 no grupo total de pacientes, e principalmente naqueles apresentando história familiar de AR, sugere que a deficiência de C4B tem um caráter importante de predisposição familiar da doença, e que os indivíduos portadores deste alelo apresentam um maior risco de desenvolverem a doença no nosso meio. Os resultados obtidos indicam um papel imunogenético do Complemento na AR, tanto nas manifestações clínicas quanto na fisiopatogenia da doença.

## 1. INTRODUÇÃO

O sistema Complemento é reconhecido como um dos principais sistemas efetores da resposta imune, modulando reações humorais e celulares (ROTHER & TILL, 1988; WILLIAMS et al., 1988). A ativação do Complemento é de fundamental importância na manutenção da homeostase do hospedeiro, contribuindo para a eliminação de microorganismos invasores, assim como para a solubilização e eliminação de imuno-complexos. Por outro lado, uma ativação exacerbada ou uma falha no mecanismo de ativação das proteínas do complemento, pode causar efeitos deletérios ao organismo, fato que se verifica em várias doenças mediadas por mecanismos imunopatológicos, como por exemplo no lupus eritematoso sistêmico e na artrite reumatóide (ALPER et al., 1983; PORTER, 1983; McLEAN & WINKELSTEIN, 1984; NAAMA et al., 1985).

A Artrite Reumatóide (AR) é uma poliartrite crônica que ocorre com frequência na nossa população, podendo levar a deformidades articulares e comprometimento sistêmico significativos, determinando perda da capacidade física do indivíduo. Embora a etiopatogenia da AR ainda não seja bem conhecida, o envolvimento de mecanismos auto-imunes já está bem estabelecido, os quais provavelmente são decorrentes da interação de múltiplos fatores, incluindo os genéticos e ambientais.

Existem evidências de que o Complemento é um importante mediador das lesões articulares e extra-articulares da AR (TRENTHAM, 1985; DYER et al., 1986), e que a suscetibilidade à doença é determinada em parte por fatores genéticos associados ao Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) (KAY et al., 1983; McCLUSKEY et al., 1983; GRENNAN et al., 1984; RAUM et al., 1984a; SANDERS et al., 1987). Estas observações foram obtidas através de estudos em diferentes populações, onde demonstrou-se uma associação entre a AR e o antígeno HLA-DR4 da classe II do MHC (STATSNY, 1980; ZILKO et al., 1980; WOODROW et al., 1981; NUNEZ-ROLDAN et al., 1982; SWISS FEDERAL COMMISSION FOR THE RHEUMATIC DISEASES, 1986; SANDERS et al., 1988), e também foram demonstradas associações da doença com diferentes alelos das proteínas de classe III do MHC, como com o componente C4 (O'NEIL et al., 1982; SANDERS et al., 1988), e com o Fator B (DYER et al., 1985;

SANDERS et al., 1988). Além da associação entre AR e estes diferentes marcadores dentro do MHC, observou-se também uma associação da doença com o polimorfismo genético do componente C3 do complemento (FARHUD et al., 1972; DAHLQUIST et al., 1985).

## 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os componentes C4, C3 e o Fator B (BF) têm uma função essencial na reação de ativação do complemento, exercendo desta forma um papel importante na fase efetora da resposta imune. O C3 é a proteína central na reação de ativação de ambas as vias (clássica e alternativa) do complemento, enquanto que o BF é indispensável para a ativação da via alternativa, fazendo parte da enzima C3 convertase da via alternativa (FIGURA 1). O componente C4 é integrante da enzima C3 convertase da via clássica, a qual leva a ativação de C3 (ROTHER & TILL, 1988).

Os genes do MHC estão localizados no braço curto do cromossoma 6 e codificam 3 grupos de glicoproteínas, denominadas de classe I, II e III (RITTNER, 1976; ALPER et al., 1983; PORTER, 1983). As classes I e II compreendem os antígenos leucocitários humanos (HLA). A classe I (HLA-A, -B, e -C) define antígenos de transplantes determinados sorologicamente, e a classe II (HLA-DR, -DQ, e -DP) codifica antígenos envolvidos na regulação da resposta imune. As classes I e II caracterizam-se como glicoproteínas transmembranárias da superfície celular, necessárias para as interações moleculares envolvidas no reconhecimento dos antígenos próprios e estranhos, através dos linfócitos T (DALTON & BENETT, 1992). A classe III do MHC inclui 4 genes (C2, BF, C4A e C4B) responsáveis pela codificação dos componentes C2, BF e C4 do sistema Complemento. Estes componentes parecem ser herdados como uma só unidade denominada de "Complotipo" (FIGURA 2). As variantes genéticas destas proteínas do complemento são caracterizadas por diferenças na mobilidade eletroforética (DAWKINS et al., 1983).

Durante as duas últimas décadas muitos conhecimentos foram adquiridos em relação a genética do complemento, o que levou a um melhor entendimento de várias situações clínicas (McLEAN & WINKELSTEIN, 1984).

O aumento significativo da frequência de certas variantes genéticas de C4, C3 e BF numa série de doenças como: lupus eritematoso sistêmico, hanseníase, esclerose múltipla, glomerulonefrite crônica, neurite óptica, síndrome nefrótica, diabetes melitus tipo I, hiperplasia adrenal congênita, fibrose cística, artrite reumatóide, espondilite anquilosante, deficiência de 21-hidroxilase, esclerose sistêmica progressiva, nefropatia membranosa idiopática, hipertensão essencial familiar e outras situações (QUADRO 3); suportam a possibilidade de que estas variantes participariam do mecanismo etiopatogênico destas doenças, provavelmente como resultado das propriedades biológicas específicas destas diferentes variantes (FARHUD et al., 1972; RITTNER & BERTRAMS, 1981; McLEAN & WINKELSTEIN, 1984; FIELDER et al., 1983; NAAMA et al., 1985; PAPIHA & RODGER, 1986).

## 1.2 SISTEMA COMPLEMENTO

O sistema Complemento constitui-se num dos principais mediadores humorais do sistema imune, e tem papel essencial na proteção do indivíduo contra infecções microbianas, mediando uma variedade de reações biológicas, como por exemplo a opsonização, a quimiotaxia dos leucócitos, o aumento da permeabilidade vascular e a citólise de microorganismos-alvo. Estas atividades do complemento, que promovem uma reação inflamatória, têm também o potencial de danificar o hospedeiro. As doenças humanas relacionadas com o complemento podem manifestar-se na forma de uma deficiência quanto a resistência à infecção, ou por alterações no mecanismo de ativação do sistema, ou ainda por estados de hipersensibilidade causados por uma ativação excessiva do complemento (COLTEN et al., 1978; WEST, 1989).

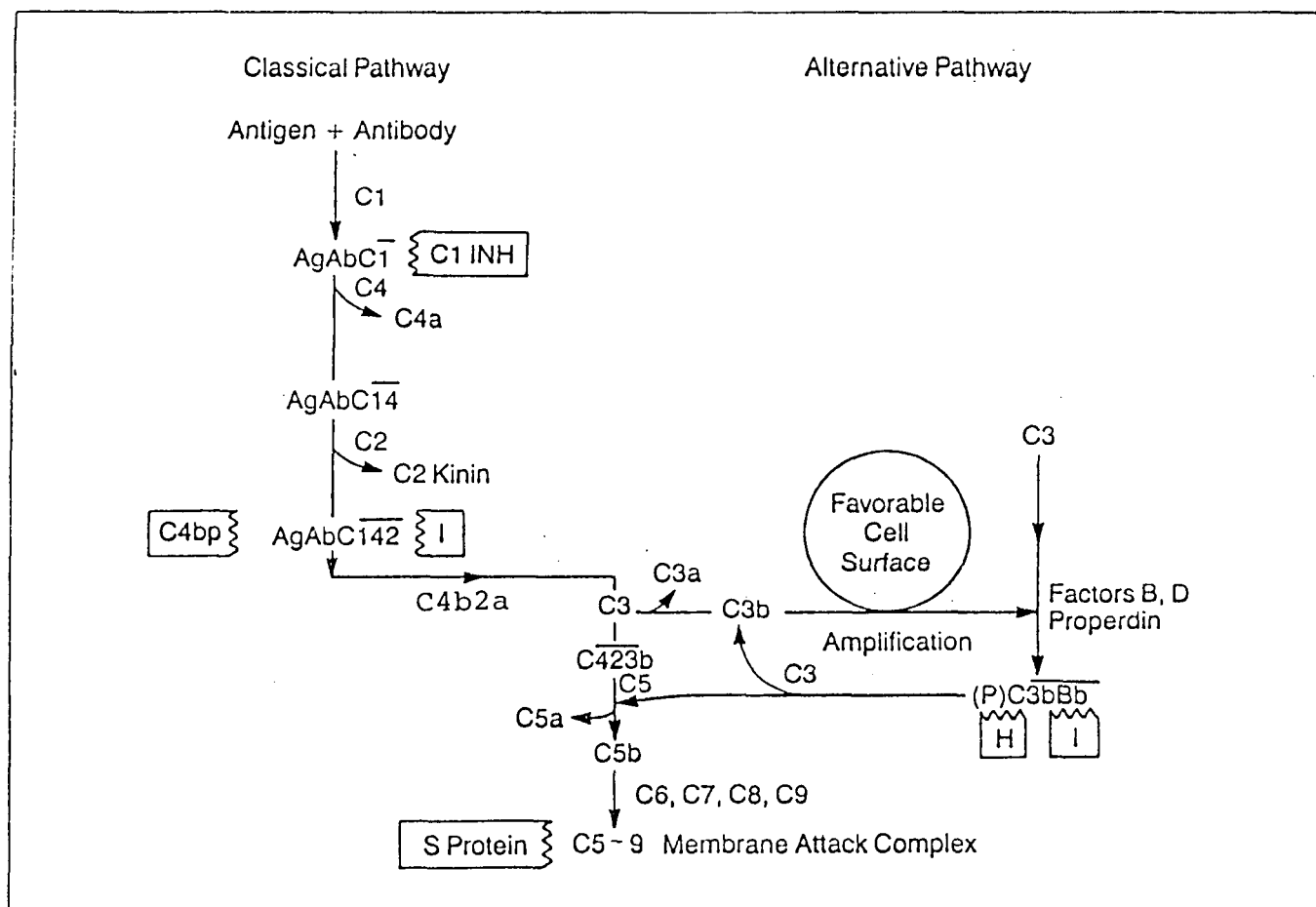


FIGURA.1. Sequência da ativação das vias clássica e alternativa do Sistema Complemento (EICHENFIELD & JONSTON, 1989).

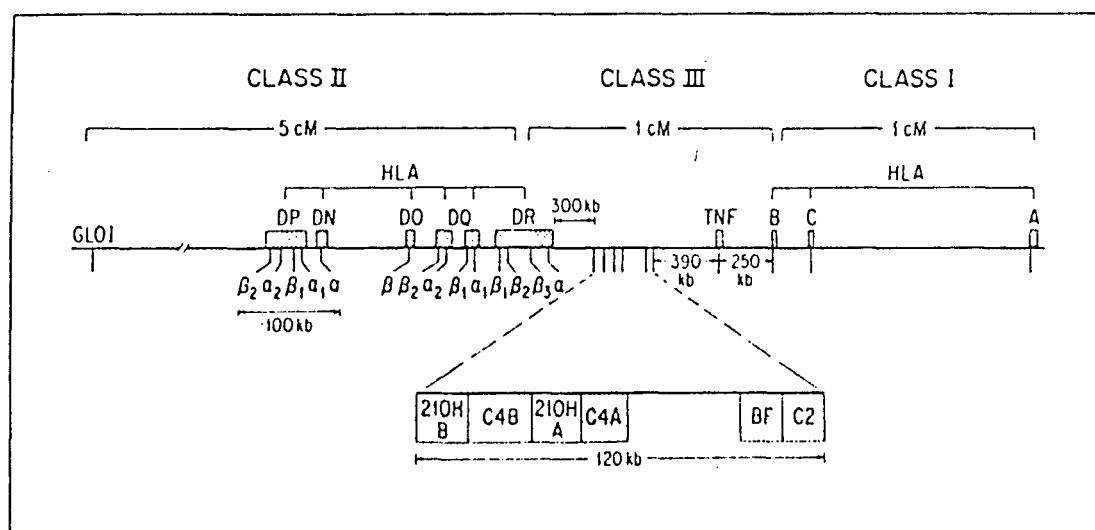


FIGURA.2. O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) no cromossoma 6 (ALPER et al., 1989).

O sistema Complemento consiste de mais de 20 proteínas séricas, das quais fazem parte os componentes da via clássica e da via alternativa, receptores de membrana celular e proteínas reguladoras (ROTHER & TILL, 1988). As denominações via clássica e alternativa surgiram do uso comum, e ordem de descoberta; e não devido a considerações quanto a sua importância relativa ou a sua ontogenia nas outras espécies animais. As proteínas da via clássica são designadas pela letra C seguidas de um número: C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 e C9. O componente C1 é formado por três subunidades distintas, C1q, C1r e C1s; as quais formam um complexo macromolecular unido por íons cálcio. As proteínas da via alternativa são designadas por letras maiúsculas: B, D, P, H e I. Embora tenha-se verificado que o C3 é também constituinte essencial da via alternativa, foi mantida sua nomenclatura da via clássica. Os fragmentos de clivagem dos componentes são designados por letras minúsculas, como por exemplo: C3a, C3b, Ba e Bb; e os componentes inativos são indicados pela letra i, como por exemplo: C3bi e Bbi. Uma barra sobre o componente, como por exemplo, C1 indica que o componente foi convertido à sua forma enzimaticamente ativa (ROTHER & TILL, 1988).

**QUADRO.1. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO SISTEMA COMPLEMENTO (EICHENFIELD & JOHNSTON, 1989).**

<b>Produtos da ativação</b>	<b>Atividade Biológica</b>
C14, C1423	Neutralização viral
C3a	Supressão à resposta dos anticorpos
C4a, C3a, C5a	Anafilatoxina (liberação de mediadores vasoativos, aumento da permeabilidade vascular)
C3b, C4b	Opsonização, exacerbação da imunidade mediada por células, solubilização de imuno-complexos
Produtos de clivagem de C3	Ativação dos granulócitos
C5a	Quimiotaxia, agregação dos granulócitos, elevação da resposta aos anticorpos
C1-5	Inativação de endotoxinas
C5b-9 (Complexo lítico membrana)	de Lise celular (vírus, células infectadas por vírus, células tumorais, Mycoplasma, protozoários, espiroquetas, bactérias, células do hospedeiro)

### 1.2.1 Vias de Ativação do Complemento

A clivagem de C3 por enzimas do complemento, denominadas "C3 convertases", é a reação mais crítica do sistema Complemento para a elaboração de suas atividades biológicas. Talvez por essa razão existam duas vias, a clássica e alternativa, pelas quais podem ser formadas as enzimas C3 convertases. A ativação da via clássica é iniciada essencialmente por certos complexos antígeno-anticorpo, o que caracteriza a sua dependência da resposta imune específica. Por outro lado, a via alternativa pode ser ativada diretamente por uma variedade de superfícies celulares (incluindo as de algumas bactérias, parasitas, fungos e células de mamíferos), por possuírem certas características bioquímicas específicas. A via alternativa pode ser ativada na ausência de anticorpo específico, o que caracteriza a sua importância dentro da resistência natural. Ambas as vias podem ativar eficientemente C3 e C5-C9, formando complexos e peptídeos biologicamente ativos responsáveis pelas atividades biológicas do complemento (QUADRO 1).

#### 1.2.1.1 Via Clássica

Apenas as imunoglobulinas IgM e IgG (exceto IgG4) podem ativar a via clássica, as demais classes de anticorpos não são capazes de se ligar a C1 e convertê-lo à sua forma ativa, C1 $\bar{r}$ . A ligação do subcomponente de C1, C1q à região Fc de uma IgM ou de pelo menos duas moléculas adjacentes de IgG, em um complexo antígeno-anticorpo, induz a uma alteração conformacional de C1q, que leva a conversão de C1 $\bar{r}$  à sua forma ativa, C1 $\bar{r}$ . Esse subcomponente ativa então, proteoliticamente, C1s a C1 $\bar{s}$ . O subcomponente C1 $\bar{s}$  cliva sequencialmente, C4, cujo maior fragmento -C4b- liga-se covalentemente ao imuno-complexo, e a C2, gerando C2a, que se liga a C4b, formando C4b2a, a convertase de C3 da via clássica. O sítio ativo desta enzima reside em C2a, a qual após a clivagem de C3 também adquire atividade proteolítica sobre C5, depois que o maior fragmento de C3, C3b, ter se ligado covalentemente a sítios adjacentes sobre o alvo.

Três proteínas plasmáticas regulam a ativação da via clássica: o inibidor de C1 $\bar{r}$  (C1INH), a proteína ligadora de C4 (C4bp) e o inativador de C3b/C4b (o Fator I). O inibidor de C1 $\bar{r}$  (C1INH) liga-se irreversivelmente aos sítios enzimáticos de C1 $\bar{r}$  e C1s,

bloqueando-os, o que impede a ativação de C1s pelo primeiro e a clivagem de C4 e C2 pelo outro. A proteína ligadora de C4 (C4bp) liga-se a C4b, impedindo a ligação de C2 a C4b, ou dissociando C2a quando este já se encontra ligado a C4b. A ligação de C4bp torna também, C4b suscetível à inativação proteolítica pelo inativador de C3b/C4b, o fator I; o que fornece dois fragmentos de degradação, C4c e C4d.

### 1.2.1.2 Via Alternativa

A via alternativa é mais complexa do que a via clássica, já que são formadas duas C3 convertases (FEARON & AUSTEN, 1980). A C3 convertase "preparadora", C3Bb, é formada pela lenta interação, na fase fluida, de C3, B, D e properdina, independentemente da presença de substâncias ativadoras, e fornece continuamente pequenas quantidades de C3b através da hidrólise espontânea de C3, iniciando a formação da C3 convertase "amplificadora", C3bBb. Esta convertase amplificadora é responsável pela clivagem efetiva de C3 pela via alternativa, e o adjetivo "amplificadora" é utilizado porque C3b é tanto uma subunidade quanto um produto desta enzima. Moléculas de C3b que se tenham ligado covalentemente a superfícies celulares recebem a ligação de B, e este é clivado por D de modo a expor o sítio de clivagem de C3 existente no fragmento Bb. C3b,Bb perde rapidamente sua atividade por dissociação espontânea da subunidade catalítica Bb, que se transforma em Bbi, inativo. A properdina serve para estabilizar a atividade da C3 convertase, por ligar-se à subunidade C3b e retardar a dissociação de Bb. C3b,Bb adquire atividade de C5 convertase após clivagem de moléculas adicionais de C3 e deposição de C3b em sítios adjacentes sobre o alvo ativador. A regulação da amplificação de C3 convertase é essencial, por causa do seu potencial de retroação positivo, sendo efetuada por duas proteínas controladoras, H e I. A capacidade de H em ligar-se à C3b dota essa proteína de três efeitos inibitórios: bloqueio da formação de C3b,Bb, dissociação de Bb que já esteja ligado a C3b e aumento da susceptibilidade de C3b à proteólise exercida por I, que fornece C3bi, uma forma inativa da proteína.

O resultado da competição entre B e H e a ligação de C3b à membrana celular determina se essa célula ativará ou não a via alternativa. C3b encontrado na fase fluida ou afixado à superfície



de um elemento não ativador da via, liga-se a H com uma afinidade quase 100 vezes maior do que aquela com que se liga a B, enquanto que C3b localizado sobre a superfície de um ativador liga-se a H menos efetivamente, e a ligação da proteína reguladora não é favorecida. Esta última circunstância resulta na formação de C3b,Bb sobre a superfície da célula ativadora e amplifica a reação, por clivagem de C3 adicional.

Uma característica bioquímica das membranas celulares, que influencia a afinidade de C3b ligado à célula por H, é a quantidade relativa de ácido siálico presente em glicolipídeos e glicoproteínas associadas à membranas (McLEAN & WINKELSTEIN, 1984). Esse carboidrato aumenta a afinidade de C3b por H mas não por B, de tal modo que sua presença sobre uma membrana celular impede a ativação da via alternativa. Ao contrário, a ausência de ácido siálico na superfície celular permite que a ativação ocorra sobre uma membrana.

A capacidade da via alternativa responder a células ou constituintes deficientes em resíduos de ácido siálico pode ser relevante quanto ao seu papel na resistência natural à infecção, já que a maioria das bactérias, alguns parasitas, e todas as plantas não possuem, esse carboidrato (WILLIAMS et al., 1988). Além disso, algumas das espécies bacterianas que possuem o ácido siálico capsular, como o *Streptococcus* Grupo B Tipo III, a *Neisseria meningitidis* Grupos B e C e a *Escherichia coli* K 1, são patogênicas para o homem, sugerindo que o ácido siálico capsular facilite seu escape das defesas do hospedeiro. A capacidade do anticorpo em intensificar a ativação da via alternativa por bactérias e células de mamíferos, sem envolvimento dos componentes de ativação clássica, tem sido também demonstrada, e pode estar relacionada com uma alteração da expressão ou da distribuição de estruturas de membrana capazes de regular a função da C3b ligado à célula (FEARON, 1983).

### 1.2.2 Sequência Final Efetora e Conseqüências Biológicas da Ativação

A formação da C5 convertase pelas duas vias ativadoras fornece uma especificidade enzimática que é necessária para continuar a reação do complemento através da sequência efetora do sistema. A clivagem proteolítica de C5 libera o peptídeo C5a,

que possui atividades anafilatóxica e quimiotática, e o fragmento maior C5b, que inicia a formação do complexo de ataque à membrana, C5b-C9. C6 e C7 ligam-se a C5b formando um complexo trimolecular com regiões hidrofóbicas expostas que se inserem parcialmente na membrana da célula-alvo onde se encontra a C5 convertase. A ligação de C8 por C5b-7 associado à membrana, bem como de múltiplas moléculas de C9, leva a uma maior inserção do complexo na membrana, e formação de um canal através da membrana, pelo qual podem passar água, sais e pequenas moléculas; ocorrendo dilatação da célula e lise osmótica.

Embora a função citolítica do complemento possa proteger o hospedeiro contra muitos microorganismos, certas bactérias patogênicas são resistentes à ação de C5b-9 (MAYER et al., 1981). Nesses casos, as reações mais críticas para a defesa do hospedeiro seriam as clivagens proteolíticas de C3 e C5, que geram atividades capazes de recrutar leucócitos para o foco extravascular de ativação do complemento e intensificar a capacidade das células de fagocitarem o alvo. Os peptídeos C3a e C5a liberam histamina de mastócitos, aumentando a permeabilidade vascular local. Um outro peptídeo derivado de C3, C3e, promove leucocitose, por liberação de neutrófilos da medula óssea. C5a também causa acumulação das células inflamatórias no sítio de ativação do complemento, por induzir a aderência de neutrófilos às células endoteliais e por quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares e monócitos (ROTHER & TILL, 1988). Uma vez tendo essas células chegado no local da reação, sua capacidade de ingerir e matar o microorganismo-alvo é grandemente aumentada pela presença de C3b na partícula ativadora do microorganismo, já que essa opsonina liga o alvo ao fagócito, via receptor para C3b existentes na membrana plasmática destas células. Os eosinófilos também possuem receptores de membrana para C3b que intensificam a fagocitose de alvos portadores de C3b e aumentam a sua capacidade de matar certos parasitas recobertos de C3b, como os esquistossomas (WILLIAMS et al., 1988). As funções dos receptores para C3b existentes em linfócitos B não foram inteiramente definidas, embora tenham sido postuladas funções no reconhecimento do antígeno pela célula B, na produção de células B de memória, e na secreção de uma linfocina quimiotática (SCHIFFERLI et al.,

1986). Assim, o complemento pode lisar as células diretamente, por citólise, ou indiretamente por recrutar certas funções dos leucócitos.

### 1.2.3 Anormalidades Hereditárias do Complemento

Uma grande incidência de infecções bacterianas foi observada em pacientes com deficiências homozigóticas de C3, C5, C6, C7 ou C8 (TAPPEINER, 1982). A ausência de C3 abole a capacidade de opsonização dos fagócitos para algumas bactérias patogênicas e previne a ativação de C5-C9, de onde derivam as atividades quimiotática e citolítica do complemento. Assim, indivíduos com essa deficiência apresentam múltiplas infecções piogênicas graves. Indivíduos com deficiência de C6, C7 e C8 parecem ter uma propensão seletiva a desenvolver infecções disseminadas por *Neisseria*, sem experimentar uma incidência aumentada de infecções por outros microorganismos piogênicos, sugerindo que a citólise, e não a fagocitose, seja o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra gonococos e meningococos (ROTHER & TILL, 1988).

**QUADRO.2. DOENÇAS ASSOCIADAS A DEFICIÊNCIAS DO COMPLEMENTO (HAUPTMANN, 1989).**

Componente deficiente	Doença
C1r	Glomeronefrite, lupus eritematoso sistêmico
C1s	Lupus eritematoso sistêmico
C1INH	Angioedema hereditário, lupus eritematoso discóide, lupus eritematoso sistêmico
C4A	Lupus eritematoso sistêmico
C4B	Doenças infecciosas
C2	Glomerulonefrite, lupus eritematoso sistêmico, lupus eritematoso discóide, púrpura, dermatomiosite, anemia hemolítica, artrite reumatóide juvenil
C3	Infecções piogênicas
C5	Infecções piogênicas
C6	Infecções por <i>Neisserias</i> , fenômeno de Raynaud
C7	Infecções por <i>Neisserias</i> , fenômeno de Raynaud
C8	Infecções por <i>Neisserias</i>
C9	Nenhuma

Deficiência hereditária de C1r, C1s, C4 e C2, componentes da via clássica de ativação do complemento, têm sido observada em indivíduos apresentando uma variedade de doenças com base imunológica (RUDDY et al., 1975; HAUPTMANN, 1989) (QUADRO 2). É possível que os genes reguladores da síntese de C4 e C2 estejam em desequilíbrio de ligação com outros genes do MHC, e estes corroborariam ao desenvolvimento da disfunção imunológica. A deficiência de C1, C4 e C2 prejudica a eliminação de imuno-complexos (McLEAN & WINKELSTEIN, 1984); e a associação observada entre algumas doenças e a deficiência destes componentes do complemento está associada a presença de fenômenos auto-imunes e persistência de imuno-complexos ou deposição dos mesmos nos tecidos. A ausência de um aumento definido na suscetibilidade a infecções bacterianas nos pacientes apresentando deficiência na via clássica, enfatiza a importância da via alternativa na mediação tanto da resistência natural, quanto da resistência dependente de anticorpos, contra infecções microbianas.

#### **1.2.4 Aspectos Imunopatológicos do Complemento**

As anormalidades dos níveis séricos de complemento geralmente refletem uma ativação inapropriada do sistema e não uma anormalidade hereditária das proteínas que o compõem. Nas doenças por imuno-complexos, como o lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatóide, há uma ativação excessiva por mecanismos fisiológicos ou fisiopatológicos, resultando em níveis reduzidos no soro e no fluido sinovial, respectivamente dos componentes da via clássica (BRITTON & SCHUR, 1971). O complemento está envolvido nas mais variadas situações clínicas como: na coagulação intravascular disseminada, na síndrome de angústia respiratória do adulto, nas reações adversas a drogas (como a meios de contraste radiológicos), circulação extracorpórea, hemodiálise, rejeição hiperaguda de transplantes e outras (ROTHER & TILL, 1988). Na bacteremia grave por gram-negativos ou na criptococcemia, causada por microorganismos que ativam a via alternativa; C3, fator B e properdina podem ser consumidos no plasma, causando redução de sua concentração, enquanto que C1, C4 e C2 podem permanecer dentro dos limites normais (TAPPEINER, 1982). Evidências obtidas de estudos experimentais e clínicos tem

demonstrado que as lesões teciduais induzidas pela deposição e ou formação "in situ" de imuno-complexos, requerem a presença de um sistema Complemento íntegro, e que o Complemento tem um papel essencial na indução da resposta inflamatória aguda, e consequentemente na lesão do tecido envolvido (ROTHER & TILL, 1988). O hipercatabolismo das proteínas do complemento nessas condições reflete a presença de quantidades excessivas de substâncias ativadoras, e os produtos da ativação do complemento contribuem para a exacerbação da reação inflamatória que produz o dano tecidual.

### 1.2.5 Polimorfismo Genético das Proteínas do Complemento

Durante as duas últimas décadas inúmeros novos conhecimentos, relacionados a genética do sistema Complemento vem sendo adquiridos, levando assim, a uma melhor compreensão de várias condições clínicas significativas.

As variações genéticas dos componentes do Complemento podem ocorrer de três modos: o componente pode exibir polimorfismo, pode ser deficiente ou pode ser funcionalmente inativo (McLEAN & WINKELSTEIN, 1984). Um marcador genético é dito apresentar polimorfismo, quando este ocorrer em mais do que uma forma reconhecida. Acrescenta-se ainda, que esta característica determinada geneticamente deva ser produto de um locus gênico com dois ou mais alelos, cada um destes ocorrendo com uma frequência de 1% ou mais na população (HARRIS, 1980). Por definição, alelos polimórficos são codominantes, porque os seus produtos podem ser identificados. Já foram demonstrados apresentarem polimorfismo, vários componentes da via clássica (C2, C3, C4, C5, C6, C7 e C8) e os fatores B, D e I da via alternativa (ROTHER & TILL, 1988). Em alguns casos, como para C4, BF e C3, o número de formas polimórficas é grande. Além dos alelos comuns, podem ser encontrados os alelos raros (com uma frequência menor do que 1%). Todos os componentes do Complemento, exceto C4 e C8, são controlados por genes num locus único.

Geralmente o polimorfismo genético é detectado pela diferença da carga elétrica das moléculas protéicas, utilizando-se como método básico a eletroforese em gel de agarose sob alta voltagem. Devemos salientar que as diferentes variantes genéticas dos componentes do Complemento possuem distintas

atividades biológicas, o que torna interessante o estudo da associação do polimorfismo genético do Complemento com diferentes doenças (QUADRO 3).

A importância do polimorfismo genético do Complemento reside nos achados significativos e diversificados em diferentes populações estudadas, podendo-se encontrar a presença ou ausência de determinados alelos em diversas doenças, o que corrobora o seu valor na investigação de marcadores genéticos específicos, para diferentes situações clínicas.

No presente estudo envolvendo AR, concentramo-nos no polimorfismo genético de BF, C3 e C4; devido ao fato de já terem sido descritas associações alélicas destes componentes com esta doença em outras populações, o que passamos a descrever a seguir.

#### 1.2.5.1 Fator B (BF)

Esta proteína foi originalmente descrita como glicoproteína II rica em glicina (GBG), com dois fragmentos de conversão: GAG (Ba) e GGG (Bb), idênticas ao pró-ativador de C3 (ALPER et al., 1972; GÖTZE & MÜLLER-EBERHARD, 1971; HAUPT & HEIDE, 1965). O BF é um componente da via alternativa do complemento, e sua expressão é controlada por um gen localizado no MHC (ALLEN, 1974) (FIGURA 2). O locus BF é polimórfico, apresentando dois alelos mais comuns BF\*F (Fast) e BF\*S (Slow) e uma variedade de alelos mais raros (FIGURA 3), os quais podem ser determinados de acordo com a mobilidade eletroforética relativa, em comparação com a distância de migração entre as bandas S e F1 (GESERICK et al., 1990a e 1990b).

A base do polimorfismo dos alótipos comuns F e S está localizada no fragmento Ba, enquanto que a das variantes mais raras no fragmento Bb (ALPER et al., 1972); concluiu-se portanto, que determinadas regiões destes fragmentos são responsáveis pela diferença na mobilidade eletroforética dos alelos, determinando o polimorfismo do Fator B.

A ocorrência da deficiência completa de BF (alelos silenciosos ou nulos = BF\*Q0) é extremamente rara, sugerindo que a ativação do C3 pela via alternativa seja de maior importância biológica, do que pela via clássica (WEIDINGER et al., 1979). O alelo BF\*S é predominante em caucasóides e em orientais com uma frequência alélica entre 0,77 e 0,99; ao passo que em negróides a frequência

alélica de BF\*S varia entre 0,28 e 0,44. (ALPER et al., 1972; MAUFF et al., 1975; MAUFF et al., 1976; TOKUNAGA et al., 1982). Variantes com mobilidades extremas são raras em todas populações estudadas, exceto na população basca, onde o alelo BF\*F1 atinge uma frequência de 0,126 (De MOUZON et al., 1979).

D'YER et al., (1984) encontraram uma frequência diminuída do fenótipo BF\*SF e um aumento da frequência fenotípica de BF\*S em pacientes com AR, o que também foi evidenciado por LANCHBURY et al., (1987). No entanto, outros autores não encontraram associações significativas entre AR e BF (HOWARD et al., 1984; DAHLQUIST et al., 1985; PUTTICK et al., 1990a).

Outras associações com doenças envolvendo alelos de BF estão demonstradas no QUADRO 3.

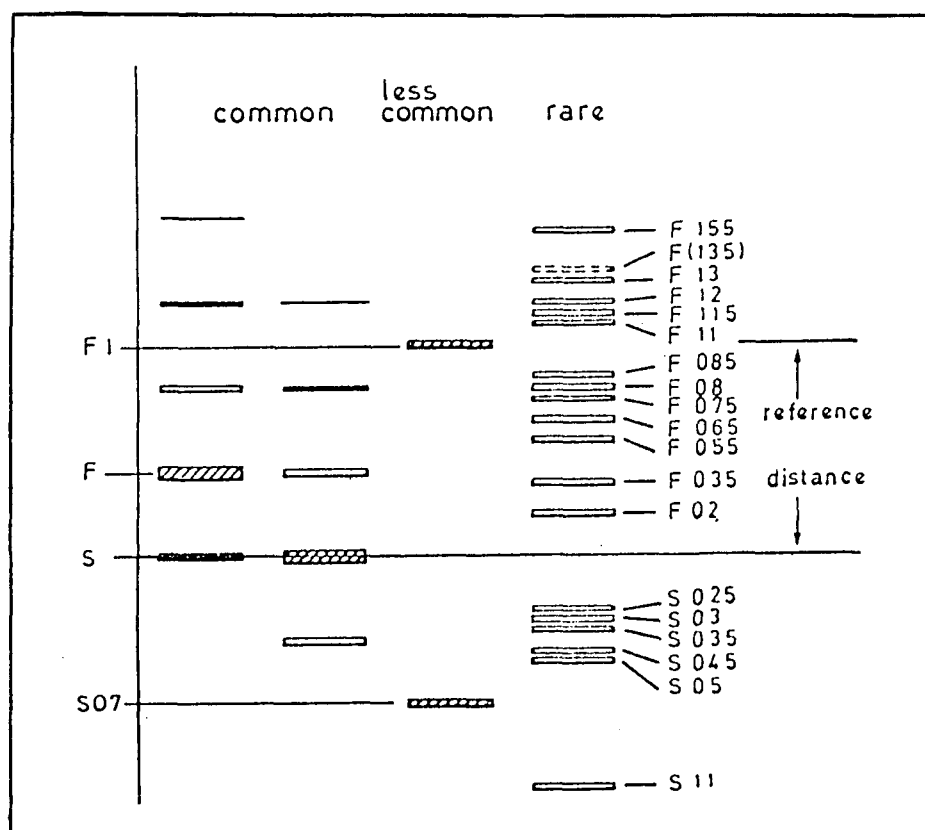


FIGURA.3. Alótipos comuns e raros de BF (MAUFF, 1986).

### 1.2.5.2 C3

O terceiro componente do sistema Complemento é polimórfico e a sua expressão é controlada por um gen localizado no cromossoma 19 (WHITEHEAD et al., 1982). A base molecular do polimorfismo de C3, que reside no fragmento C3c, ainda não é conhecida (MAUFF, 1977). O polimorfismo de C3 foi descrito inicialmente por ALPER & PROPP, (1968).

O polimorfismo de C3 se caracteriza pela presença de dois alelos comuns (S\* e F\*) e de um grande número de alelos raros.. As variantes são definidas de acordo com a sua mobilidade eletroforética relativa, em comparação com a mobilidade da variante padrão C3\*F1. A lista total dos alótipos de C3 compreende atualmente as duas variantes comuns e 29 variantes raras (RITTNER & STRADMAN-BELLINGHAUSEN, 1990), o que pode ser observado na FIGURA 4.

As frequências de C3\*S e C3\*F são de aproximadamente 0,8 e 0,2 respectivamente em caucasóides; em negróides a frequência de C3\*F está em torno de 0,04; e é muito rara em orientais (0,004) (ALPER & PROPP, 1968; TEISBERG, 1971; FARHUD & WALTER, 1973; ZHAO, 1983; NISHIMUKAI et al., 1985).

Há poucos registros evidenciando a associação do polimorfismo de C3 com doenças. Dentre esses, destaca-se o aumento do alelo C3\*F em pacientes com AR (BRÖNNESTAM, 1973), fibrose cística (SCHLOTZ et al., 1978), e em idosos com arteriosclerose (DISSING et al., 1972) (QUADRO 3).

FARHUD et al., (1972) registraram aumento significativo de C3\*F em pacientes negros soropositivos com poliartrite crônica, o que foi confirmado por BRÖNNESTAM, (1973). No entanto, estudos posteriores não confirmaram esta associação em outras populações (DAHLQUIST et al., 1985; THOMSON et al., 1986a; LANSCHBURY et al., 1987; PUTTICK et al., 1990b).



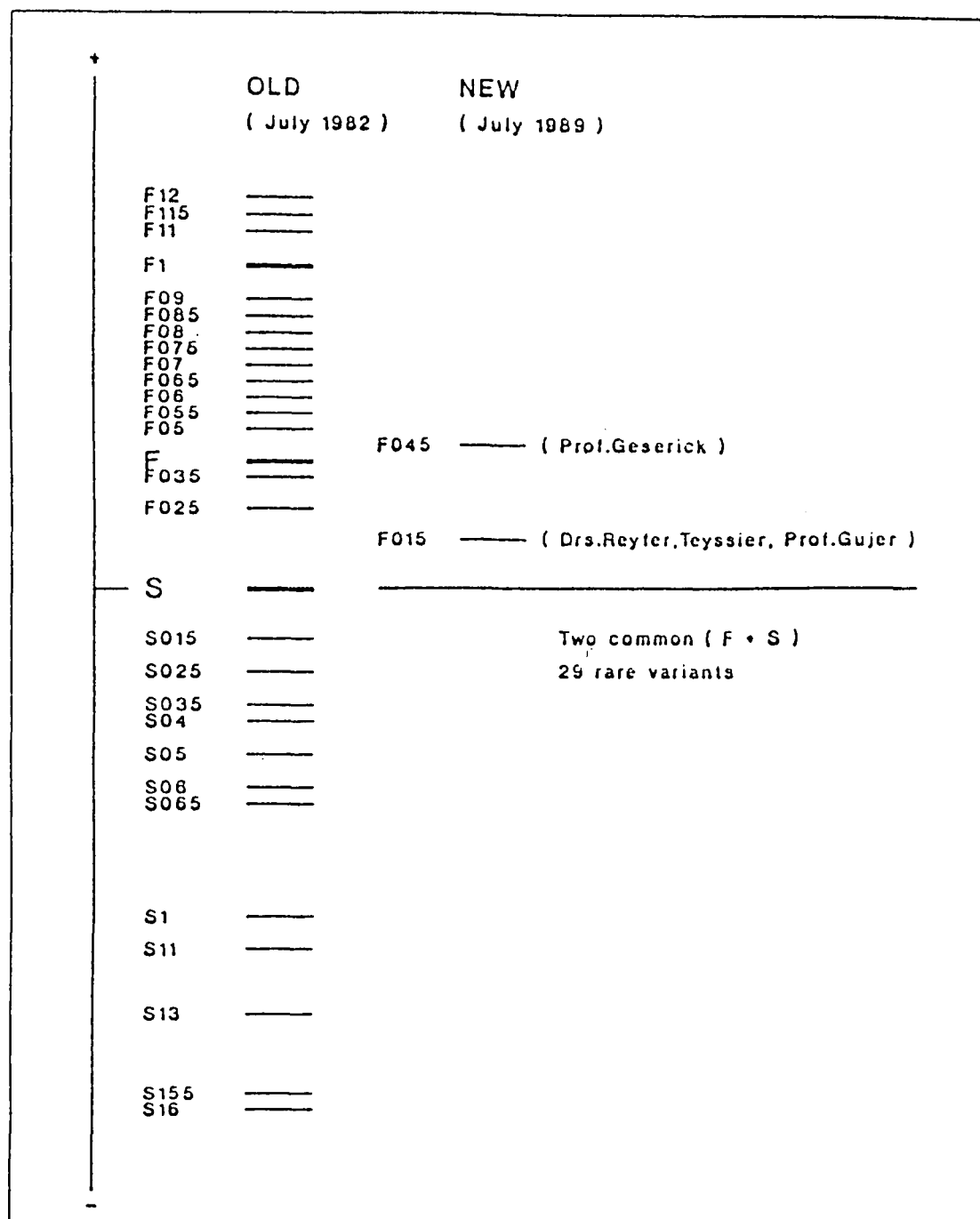


FIGURA.4. Alótipos comuns e raros de C3 (RITTNER & STRADMANN-BELLINGHAUSEN, 1990)

### 1.2.5.3 C4

No braço curto do cromossoma 6, situam-se dois loci responsáveis pela expressão protéica de C4, os quais são designados de C4A (Ácido) e C4B (Básico). A base molecular para o polimorfismo do C4 reside no fragmento C4d, na substituição de 4 aminoácidos (BELT et al., 1984; MEVAG et al., 1981; TILLEY et al., 1978). HELLMAN et al., (1984) demonstraram que a sequência de aminoácidos no fragmento C4d, é diferente para C4A e C4B. O gen C4A contém a sequência Asp-Pro-Cys-Pro-Val-Leu-Asp-Arg, ao passo que no gen C4B a sequência é Asp-Leu-Ser-Pro-Val-Ile-His-Arg. O C4A é mais ácido do que o C4B, possivelmente devido a substituição Asp-His (LAW et al., 1984).

Apesar da alta sequência homóloga, C4A e C4B exibem uma notável diferença na reatividade tioéster. Sabe-se que o C4A liga-se preferencialmente a grupos aminas dos antígenos peptídicos, enquanto que o C4B liga-se mais eficientemente a grupos hidroxílicos de carboidratos (ISENMAN & YOUNG, 1984; LAW et al., 1984; DODDS et al., 1986; YU et al., 1986). Esta ligação preferencial pode explicar a atividade hemolítica quatro vezes maior do C4B em relação ao C4A (PAUL et al., 1988). Além disso, o C4A tem uma capacidade 30% maior de ligar-se a imuno-complexos do que o C4B. SCHIFFERLI et al., (1986) acrescentam que o C4A também é 1.7 vezes mais eficiente na inibição da imuno precipitação do que o C4B. Isto sugere que o C4A está envolvido principalmente nas reações do tipo "clearance" de imuno-complexos.

A nomenclatura dos alótipos de C4 é decorrente da mobilidade eletroforética relativa dos alelos de C4A e de C4B, e da atividade hemolítica (AWDEH & ALPER, 1980a e 1980b). O C4 exibe um alto grau de polimorfismo genético, sendo conhecido em torno de 13 alelos de C4A e 16 alelos de C4B, de acordo com a VI Conferência e Workshop sobre Complemento, realizada em Mainz, Alemanha, em julho de 1989 (MAUFF et al., 1990) (FIGURA 5). Além destes, ocorrem os alelos não expressos ou nulos (AQ0 e BQ0), com antigenicidade reversa (antigenicidade de C4A, porém com atividade hemolítica), assim como as duplicações (homo e heteroduplicações). Uma melhor compreensão da expressão dos diferentes haplótipos de C4, é demonstrada na FIGURA 6.

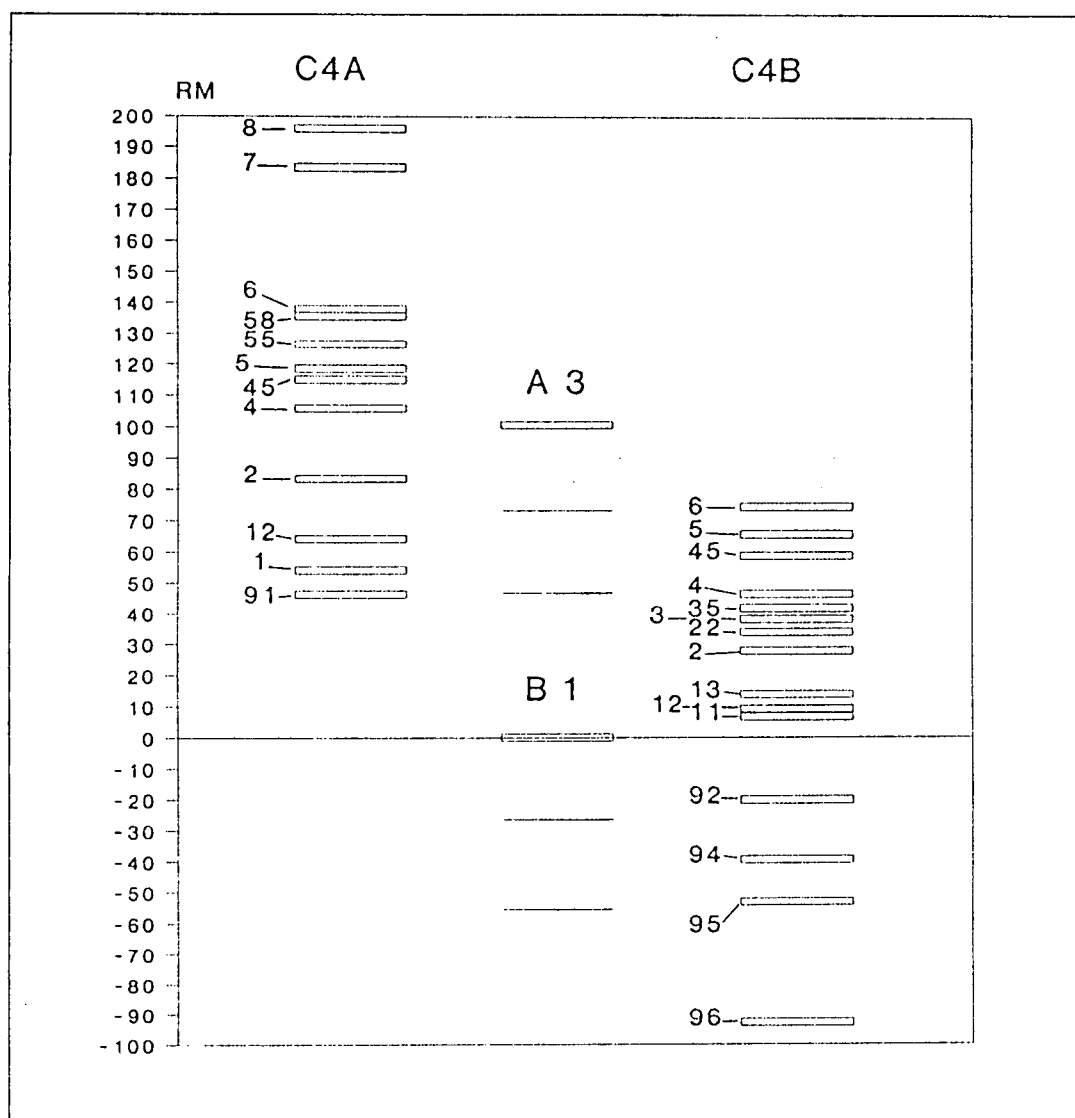


FIGURA. 5. Distâncias relativas de migração dos alótipos de C4A e C4B (MAUFF et al., 1990). (RM = Migração relativa)

**QUADRO.3. ALELOS DE C3, BF E C4 ASSOCIADOS COM DOENÇAS**

<b>ALELO</b>	<b>Doenças</b>	<b>Referências</b>
<b>C3*F</b>	Artrite reumatóide Fibrose cística Doença vascular arteriosclerótica	BRÖNNESTAM, 1973 SCHLOTZ et al., 1978 DISSING et al., 1972
<b>BF*F1</b>	Glomerulonefrite membranosa Diabetes melitus tipo I Lepra lepromatosa (negros)	DYER et al., 1980 RAUM et al., 1979 GREINER et al., 1980
<b>BF*F075</b>	Diabetes melitus tipo I	MAUFF, 1985
<b>BF*F</b>	Neurite óptica Síndrome nefrótica idiopática	FIELDER et al., 1981 McLEAN et al., 1983
<b>BF*S</b>	Espondilite anquilosante Artrite reumatóide	MIGONE et al., 1978 DYER et al., 1984
<b>BF*SF</b>	Doença celíaca Artrite reumatóide	O'WEN et al., 1980 WARLOW et al., 1985
<b>BF*S07</b>	Lepra lepromatosa	GREINER et al., 1980
<b>C4A*Q0</b>	Lupus eritematoso sistêmico Síndrome lupus-like Panencefalite esclerosante subaguda Diabetes melitus tipo I Hiperplasia adrenal congênita Artrite reumatóide	FIELDER et al., 1983 HAUPTMANN, 1974 RITTNER et al., 1984c MAUFF, 1985 FLEISCHNICK et al., 1983 TAKEUCHI et al., 1989
<b>C4*A4</b>	Esclerose múltipla	SCHRÖEDER et al., 1983
<b>C4*A6</b>	Lepra lepromatosa	GREINER et al., 1989
<b>C4B*Q0</b>	Lupus eritematoso sistêmico Lupus discóide Esclerodermia Artrite reumatóide Hiperplasia adrenal congênita Nefropatia membranosa idiopática Meningite bacteriana Bacteremia por encapsulados Paracoccidioidomicose brasileira	FIELDER et al., 1983 AGNELLO, 1983 MOLLENHAUER et al., 1984 SANDERS et al., 1988 FLEISCHNICK et al., 1983 MAUFF, 1985 ROWE et al., 1989 BISHOP et al., 1990 de MESSIAS et al., 1991a
<b>C4*B2</b>	Doença de Alzheimer Artrite reumatóide	NERL et al., 1982 SANDERS et al., 1988
<b>C4*B3</b>	Artrite reumatóide Diabetes melitus tipo I Glomerulonefrite membranoproliferativa	O'NEIL et al., 1982 KAY et al., 1983 WANK et al., 1984
<b>C4*B5</b>	Artrite reumatóide	TAKEUCHI et al., 1989



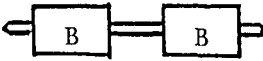
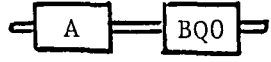
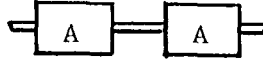
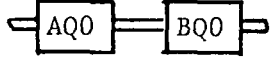
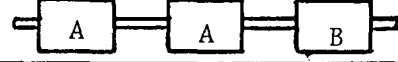
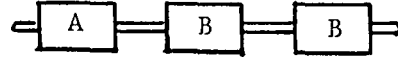
HAPLÓTIPOS DE C4	Isót. expr.	% app.
	A + B	70
	B	18
		
	A	10
		
	Ne- nhum	Muito raro
	A + B	1
		

FIGURA.6. Expressão haplotípica de C4 (Elaborado de ROTHER & TILL, 1988). (Isót. expr. = Isótipo expresso; app. = aproximado)

Os alelos nulos (Q0 = quantidade zero) de C4 (C4A\*Q0 e C4B\*Q0) têm sido descritos em associação com doenças auto-imunes e infecciosas, sendo o lupus eritematoso sistêmico (LES) o seu protótipo de associação (HOWARD et al., 1986; BRIGGS et al., 1991), além da artrite reumatóide (PUTTICK et al., 1990a). A estrutura gênica dos alelos nulos de C4 foi estudada através de clonagem do DNA, que demonstrou a deficiência estar baseada, tanto em deleções (incluído a deleção dos genes C4 e 21-OH), quanto na não expressão de genes estruturalmente presentes (CARROLL et al., 1985). Dados recentes implicam o alelo C4A\*Q0 como um marcador primário do MHC na suscetibilidade ao lupus eritematoso sistêmico (BATCHELOR et al., 1988). A importância da deficiência do Complemento na suscetibilidade do LES é corroborada pela alta prevalência de

pacientes lúpicos apresentando deficiências completas dos componentes iniciais da via clássica (QUADRO 2). Concentrações séricas baixas de C4 não são necessariamente indicação da presença de alelos nulos de C4, assim como concentrações normais não excluem a ausência de um ou outro alelo nulo. A base molecular da associação dos alelos nulos de C4 com doenças ainda é desconhecida. Sugere-se que as diferenças funcionais entre C4A e C4B, especialmente na sua capacidade de prevenir a precipitação de imuno-complexos, estejam associadas a alta prevalência de C4A\*Q0 nos pacientes lúpicos (FIELDER et al., 1983; HOWARD et al., 1986; KEMP et al., 1987).

Deficiência completa de C4 tem sido observada especialmente em pacientes com lupus eritematoso sistêmico (FIELDER et al., 1983; AGNELLO et al., 1983; REVEILLE et al., 1985). A deficiência hemi ou homozigota de C4A e de C4B (C4A\*Q0 e C4B\*Q0) além de ser observada em pacientes lúpicos, também foi descrita em síndrome lupus-like, glomerulonefrite membranoproliferativa, AR, e em doenças infecciosas (HAUPTMAN, 1974; SANDERS et al., 1988; ROWE et al., 1989; BISHOF et al., 1990; de MESSIAS et al., 1991a). Conclui-se atualmente que a presença de alelos C4\*Q0, implica num elevado risco relativo para o desenvolvimento de lupus eritematoso sistêmico. Na esclerodermia, deficiências homozigóticas e hemizigóticas de C4 Q0 são encontradas mais freqüentemente do que em indivíduos normais (MOLLENHAUER et al., 1984; RITTNER, 1983; RITTNER et al., 1984b). Na panencefalite esclerosante subaguda associada ao sarampo observa-se deficiência parcial de C4A e outras mutações de C4 (RITTNER et al., 1984c). Isto nos leva a concluir, que deficiências hemizigóticas de C4 também são fator de risco para doenças associadas a vírus lentos e para doenças auto-imunes. Na AR, além da associação ligada ao aumento do alelo C4B\*Q0, também tem sido observadas associações positivas com os alelos C4\*B2.9 (atualmente C4\*B3) (O'NEIL et al., 1982); C4\*B2 (SANDERS et al., 1988); C4A\*Q0 e C4\*B5 (TAKEUCHI et al., 1989), e diminuição de C4B\*Q0 (SANDERS et al., 1988), em diferentes populações estudadas (QUADRO 3). Maiores comentários sobre associações entre alelos de C4 e AR, serão descritos a seguir na discussão do presente estudo.

As duplicações de C4A e C4B foram descritas inicialmente por BRUUN-PETERSEN et al., (1982) numa família dinamarquesa

envolvendo os haplótipos C4A\*3A\*2 e B\*6B\*1. Posteriormente um apreciável número de duplicações foram observadas (STEUER et al., 1989; AWDEH et al., 1984; MAUFF et al., 1984; RITTNER et al., 1984a). Além destas, RAUM et al., (1984b) demonstraram outras duplicações de C4A e C4B, com frequências de 0,0075 para C4A e 0,010 para C4B.

De acordo com inúmeros estudos em diferentes populações caucasóides, negróides e orientais japoneses; tem-se estabelecido os alelos A\*3 (0,585 a 0,695) e B\*1 (0,587 a 0,760) como os de maior frequência (AWDEH & ALPER, 1980a; BAUR et al., 1984; BUDOWLLE et al., 1983; TOKUNAGA et al., 1986). Nestes estudos a frequência alélica de C4A\*Q0 variou de 0,067 a 0,273; e a de C4B\*Q0 de 0,044 a 0,158.

### 1.3 ARTRITE REUMATÓIDE

A AR é uma doença inflamatória crônica e sistêmica de etiologia desconhecida, que classicamente leva a uma poliartropatia simétrica e resulta em danos a cartilagem articular e áreas próximas das articulações. A doença apresenta amplo espectro de manifestações clínicas; as manifestações articulares e extra-articulares variam consideravelmente. A prevalência na população em geral é de 1 a 3%; a doença é três vezes mais frequente no sexo feminino que no masculino (SPECTOR, 1990). O início da doença situa-se geralmente entre os 20 e 40 anos, podendo porém, manifestar-se em qualquer idade.

Os achados patológicos das articulações consistem em sinovite crônica com formação de "pannus". O "pannus" produz erosão de cartilagem, osso, ligamentos e tendões. Durante a fase aguda são frequentes os derrames articulares e outras manifestações inflamatórias. Na fase tardia, a organização pode resultar em anquilose devido à fibrose. Tanto na fase aguda como na fase crônica, a inflamação dos tecidos moles periarticulares pode ser evidente, constituindo um fator importante de lesão articular (ZVAIFLER, 1973).

### 1.3.1 Etiopatogenia

A causa e a patogênese da AR ainda são desconhecidas. Um grande número de diferentes teorias tem sido propostas, baseadas principalmente nos aspectos genéticos, ambientais e hormonais (WINCHESTER, 1981; SPECTOR, 1990).

A predisposição genética vem sendo avaliada extensivamente no decorrer dos últimos anos. LAWRENCE, (1961) encontrou uma frequência aumentada de 3 a 4 vezes da doença em parentes de primeiro grau, de pacientes com AR soro-positiva. Há mais ou menos uma década estabeleceu-se a associação dos antígenos leucocitários humanos de classe II com a AR (STATSNY, 1978). A frequência do antígeno HLA-DR4 foi observada em 60 a 70% dos pacientes com AR, quando comparados com controles normais (27 a 35% DR4 positivos), sendo que indivíduos HLA-DR4 positivos apresentaram um risco relativo de cinco a seis vezes maior de desenvolver AR (GRAN et al., 1983). FESTENSTEIN et al., (1986) descreveram a associação do alelo nulo de C4B (C4B\*Q0) com a síndrome de Felty, sugerindo inclusive que a presença de C4B\*Q0 possa ser um marcador da doença extra-articular.

Os fatores reumatóides são auto-anticorpos reativos com a porção Fc da IgG. As atividades da antigamaglobulina estão associadas as três principais classes de imunoglobulinas (IgM, IgG e IgA), porém devido ao aumento da propriedade de aglutinação dos anticorpos IgM, os exames-padrões avaliam predominantemente os fatores reumatóides IgM. A especificidade da maioria destes anticorpos sintetizados é desconhecida, mas alguns são fatores reumatóides IgG, que se ligam a outras moléculas IgG na articulação formando imuno-complexos. Os imuno-complexos ativam a cascata do complemento, levando ao aumento da permeabilidade dos vasos, infiltração de outras células inflamatórias, e um influxo aumentado de neutrófilos, desencadeando o processo inflamatório articular e, com ele, a lesão tecidual. Deve ser considerada também a ocorrência de fator reumatóide em pacientes reumatóides assintomáticos, da soronegatividade (ausência do fator reumatóide) em portadores de AR em atividade, bem como de poliartrite na agama e hipogamaglobulinemia. Isto exige a participação de outros elementos ou vias patogênicas que possam, mesmo nestes casos, esclarecer a perpetuação do estado inflamatório



(LAWRENCE, 1977). Altos níveis de fator reumatóide em determinadas populações, podem estar relacionados ao desenvolvimento subsequente de AR (del PUENTE et al., 1988). Os fatores reumatóides (IgG) formam complexos solúveis com seu antígeno. Estes complexos, que constituem a menor parte dos complexos mensuráveis no líquido sinovial reumatóide, são capazes de reagir com fatores reumatóides IgM formando agregados insolúveis (HOLLANDER et al., 1965). Estes complexos no líquido articular, aumentados talvez por sua reatividade com a IgM do fator reumatóide, podem ativar o sistema Complemento, que por sua vez media a reação inflamatória, promovendo a fagocitose e subsequente liberação de enzimas hidrolíticas. Ainda que esta hipótese seja atraente, há várias razões pelas quais não se pode atribuir um papel exclusivo e primário aos fatores reumatóides na indução da sinovite reumatóide. Baseado nos conhecimentos atuais, considera-se que os fatores reumatóides sejam produtos de resposta do hospedeiro a um evento mais primário. Não se conhece ainda a natureza desse provável evento primário, porém existe renovado interesse em um antigo conceito de que a enfermidade microbiana possa sustentar a instalação da AR (SPECTOR, 1990).

Há muito tempo suspeita-se da participação de numerosos patógenos no desencadeamento da AR, entre eles, recente atenção concentra-se no *Mycoplasma*, *Clostridia*, proteus, retrovirus e no virus de Epstein-Barr. Este fato vem sendo corroborado com a demonstração da associação de diferentes patógenos com artropatia aguda (*Borrelia* associada com a doença Lyme, vírus da rubéola), e com artrite crônica associada a parvovírus e HLA-DR4 (KLOUDA et al., 1986; WHITE et al., 1985). Embora um fator desencadeante infeccioso para a AR tenha sido sugerido e até possa ser plausível em experimentos laboratoriais, a presença e o papel de tal agente necessita ser confirmado. Caso um agente infeccioso tenha uma papel etiológico na AR, um número variado de agentes diferentes pode estar envolvido, atuando como um estímulo não específico juntamente com outros fatores predisponentes.

Evidências epidemiológicas e imunológicas sugerem que fatores hormonais e reprodutivos contribuem na etiopatogênese e curso da AR. Os estudos clínicos documentam a predominância da AR no sexo feminino, assim um efeito hormonal deve estar

presente, já que observa-se melhora dos sintomas reumatóides durante a gravidez; isto foi observado inicialmente por MOORE em 1864 e GARROD em 1890 (GARROD, 1890). Em 1977, PERSELLIN, revisando o aspecto do efeito da gravidez sobre a AR, observou que em 274 gestações, 204 casos apresentaram melhora dos sintomas (74%), e isto ocorreu principalmente no primeiro trimestre de gravidez. Muitas destas mulheres apresentaram exacerbações dos sintomas no período pós-parto. Diferenças na atividade da doença são observadas também em diferentes estágios do ciclo menstrual (LATMAN, 1983; RUDGE et al., 1983), embora isto não tenha sido confirmado por outros autores (GOLDSTEIN et al., 1987). Provavelmente os fatores hormonais e reprodutivos participam de modo significativo na patogênese da AR. Tanto que, à gravidez e ao uso de pílula anticoncepcional são creditados fatores protetores contra o desenvolvimento da AR, embora estes possam atuar atrasando ou modificando o curso da doença, antes que conferindo imunidade (SPECTOR & SILMAN, 1988; VANDENBROUCKE et al., 1986).

A visão atual predominante da imunopatogênese da AR, é que esta é mediada por linfócitos T infiltrados na membrana sinovial e provavelmente ativados por um agente estimulante. A natureza deste antígeno estimulador permanece enigmática. Análises fenotípicas indicam que as células T ativadas desempenham um papel na patogenese da doença, o que é demonstrado através da sua presença na circulação, no tecido e líquido sinoviais. A participação da célula T na imunopatogênese da AR foi também demonstrada através da melhora clínica de pacientes tratados com terapêuticas que depletam células T (drenagem do ducto torácico, irradiação linfóide total e linfaterese) (LIPSKI, 1992).

### 1.3.2 Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas da AR variam muito. Geralmente, os sinais inflamatórios das articulações têm início insidioso, com sinais prodrômicos de mal-estar, perda de peso, distúrbios vasomotores (parestesias, fenômeno de Raynaud) e dor periarticular vaga ou rigidez articular. Em casos menos frequentes, o início é agudo, parecendo ser desencadeado por uma situação de stress, quais sejam infecção, cirurgia, traumatismo, tensão emocional ou puerpério. Observa-se edema articular caracteristicamente simétrico, acompanhado de rigidez articular,

calor, dor à palpação e dor espontânea. A dor e a rigidez articular são mais acentuadas pela manhã, desaparecendo no decorrer do dia com o uso moderado das articulações. A rigidez pode voltar após um período de inatividade durante o dia; podendo agravar-se com a atividade intensa. A rigidez constitui um indicador útil de atividade da doença. Qualquer articulação pode ser afetada, porém as articulações mais frequentemente comprometidas são as interfalangeanas proximais e as metacarpofalangeanas dos dedos das mãos, os punhos, joelhos, tornozelos e as articulações dos artelhos. Ocasionalmente, o acometimento monoarticular ocorre precocemente. Podem ocorrer cistos sinoviais e ruptura de tendões. As síndromes de compressão não são raras, sobretudo a compressão do nervo mediano no túnel do carpo do punho. Em alguns casos observa-se eritema palmar, assim como pequenos infartos hemorrágicos nas pregas ungueais ou nas polpas dos dedos, e outros sinais de vasculite. Cerca de 20% dos pacientes apresentam nódulos subcutâneos. Estes nódulos localizam-se geralmente sobre as saliências ósseas, mas podem ocorrer nas bolsas sinoviais e nas bainhas dos tendões. Um pequeno grupo de pacientes apresenta esplenomegalia e linfonodomegalia. Frequentemente há febre moderada, anorexia, perda de peso, fadiga e astenia; os calafrios são raros. Após meses ou anos podem instalar-se espessamento do tecido periarticular, deformidades em flexão, subluxação e anquilose. É frequente a atrofia da pele e dos músculos. A secura dos olhos (assim como da boca e de outras mucosas) acompanhada de manchas características de queratoconjuntivite seca na córnea e conjuntivas, é encontrada sobretudo nos casos avançados. As manifestações extra-articulares são observadas mais comumente nos casos mais severos, podendo ocorrer: vasculite, atrofia de pele e músculos, granulomas subcutâneos e viscerais, pleuriz, pericardite, fibrose pulmonar, linfonodomegalia, esplenomegalia e leucopenia (KRANE & SIMON, 1986).

### **1.3.3 Alterações Laboratoriais e Radiológicas**

As alterações das proteínas do sangue são frequentes. Diversas técnicas sorológicas são empregadas para identificar certas macroglobulinas (antiglobulinas) as quais representam o assim denominado fator reumatóide. O fator reumatóide

determinado através da prova de fixação do látex, revela-se positivo em 60 a 75% dos casos. Os títulos elevados de fator reumatóide geralmente são encontrados na doença reumatóide grave. Não são raras as reações falso-positivas.

A velocidade de hemossedimentação e os níveis de gamaglobulinas (geralmente IgM e IgG) se apresentam elevados, tanto na fase aguda como na fase crônica da doença. É freqüente a anemia hipocrômica normocítica de grau moderado. A contagem de leucócitos é normal ou ligeiramente aumentada, mas pode ocorrer leucopenia, principalmente na presença de esplenomegalia, por exemplo, na síndrome de Felty. O exame do líquido sinovial é útil, uma vez que reflete as anormalidades associadas com graus variáveis de inflamação. Nas formas graves de AR os níveis de complemento no líquido sinovial são baixos.

No exame radiológico observa-se precocemente edema de partes moles, osteoporose nas imediações da articulação acometida e erosão da superfície óssea periférica que não se encontra revestida por cartilagem. Posteriormente, a erosão extensa da cartilagem provoca diminuição da fenda articular. Formam-se cistos ósseos em consequência da invasão por tecido de granulação. A membrana sinovial reumatóide pode invadir a cápsula articular, os ligamentos e tendões, podendo contribuir para a instabilidade da articulação em decorrência da destruição de cartilagens e osso. Depois de alguns anos podem superpor-se as alterações degenerativas da osteoartrose secundária.

#### 1.3.4 Diagnóstico.

Não há um teste diagnóstico específico para a AR, e o seu diagnóstico depende do reconhecimento de padrões clínicos específicos. Visando facilitar e padronizar o diagnóstico da AR, a Associação Americana de Reumatologia (ARA) em 1958 estabeleceu critérios diagnósticos (ROPES et al, 1958). Estes critérios originais foram recentemente modificados e simplificados (ARNETT et al, 1988), e as categorias diagnósticas (AR provável ou possível), que causavam problemas, agora são omitidas.

Os 7 critérios atuais da ARA para o diagnóstico da AR são: (1) rigidez matinal de pelo menos uma hora, (2) artrite de 3 ou mais áreas articulares, (3) artrite das juntas das mãos, (4) artrite simétrica, (5) nódulos reumatóides, (6) fator reumatóide sérico

positivo, e (7) alterações radiológicas típicas nas mãos e punhos. Os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por pelo menos 6 semanas. O diagnóstico de AR é definido, se pelo menos 4 dos 7 critérios estiverem presentes.

### **1.3.5 Curso Clínico e Prognóstico**

A evolução da AR é totalmente imprevisível, se bem que nas fases iniciais da doença sejam freqüentes as remissões e exacerbações espontâneas. Geralmente a doença é progressiva e pode levar a certo grau de deformidade permanente, porém é preciso assinalar que após 10 anos a metade dos pacientes ainda é capaz de tomar conta de si mesmo e de exercer uma profissão.

Os estágios clínicos da doença vão desde uma simples inflamação articular (grau I) até a anquilose fibrosa e óssea (grau IV). Os estágios intermediários (II e III) relacionam-se com atrofia e deformidades articulares, respectivamente. Estes graus evolutivos não existem isoladamente, porquanto são superponíveis, de tal forma que uma articulação que atingiu o grau IV apresenta, concomitantemente, atrofia e episódios inflamatórios, embora fugazes e menos freqüentes. Elas não seguem paralelamente os mesmos estágios, tanto assim que numa mesma mão podem ser encontradas interfalangeanas proximais e metacarpofalangeanas em estágios de evolução diferentes. Esta distribuição totalmente anárquica na intensidade do comprometimento articular impõe, como é óbvio, uma grande dificuldade na avaliação dos aspectos evolutivos e do prognóstico desta doença.

Para a avaliação da capacidade funcional dos pacientes com AR, utilizam-se os critérios de STEINBROCKER et al., (1949) que compreendem 4 classes funcionais ou graus diferentes. Os graus I e II conferem incapacidade funcional temporária, dependendo do controle da atividade inflamatória da doença; enquanto que os graus III e IV requerem afastamento das atividades em caráter permanente, devido a limitação severa conferida pela doença.

### **1.3.6 Tratamento**

Como a etiologia da AR não é conhecida, o tratamento médico historicamente tem sido algo empírico e dirigido à supressão inespecífica da resposta inflamatória. O objetivo principal do tratamento da AR é manter a capacidade funcional do paciente. Isto é conseguido através da redução da dor e edema articular e

subsequentemente do dano articular. O tratamento é multidisciplinar e envolve medicamentos, fisioterapia, terapia ocupacional e cirurgia ortopédica. Deve-se também considerar os aspectos psicológicos e sociais envolvidos diante desta doença crônica.

As drogas utilizadas no tratamento da AR são divididas em 3 grupos. O primeiro grupo consiste da aspirina e outros anti-inflamatórios não hormonais, o segundo grupo compreende as drogas modificadoras da doença ou também denominadas drogas de ação lenta (cloroquina, ouro, auranofin, D-penicilamina), e o terceiro grupo inclui as drogas citotóxicas (methotrexate, azatioprina, ciclofosfamida). Os glicocorticóides e a sulfasalazina, que também são utilizados no tratamento da AR, são considerados separadamente.

#### 1.4 O SISTEMA COMPLEMENTO NA AR

A AR constitui um protótipo de doença inflamatória crônica destrutiva, na qual os mecanismos imunologicamente mediados contribuem em grande escala para a destruição tecidual. A sinovite constitui a característica central da AR, estando associada a inflamação da sinóvia com a presença de células mononucleares constituídas de linfócitos, macrófagos, plasmócitos; e polimorfonucleares (KOOPMAN & GAY, 1993). Os fatores que realmente desencadeiam a AR ainda não são conhecidos, é possível que algum agente, ainda indefinido, se localize na membrana sinovial e aí persista. Parece plausível que este agente desconhecido atue como um antígeno ou um ativador policlonal de células B, induzindo a formação de plasmócitos. Estes, estimulados, produzem anticorpos e fatores reumatóides, enquanto que a ativação antigênica dos linfócitos T estimula a síntese de linfocinas (SNYDERMAN, 1986). Independente do agente que inicia o processo, sua combinação com o anticorpo, bem como o complexo antígeno-anticorpo com os fatores reumatóides ou a associação de fatores reumatóides, ativa o sistema Complemento e os sistemas formadores de cininas.

O fluido sinovial apresenta evidências de ativação do complemento mediada pelos imuno-complexos. Em decorrência

da ativação do Complemento, peptídeos biologicamente ativos são liberados, os quais tem a capacidade de intensificar a reação inflamatória; entre eles, o fragmento C5a, apresenta potente ação quimiotática para polimorfonucleares e mononucleares, atraindo-os para o local da reação e induzindo a sua ativação. Uma vez no local da reação, estas células podem fagocitar os imuno-complexos com o Complemento ativado, através dos receptores para C3b, C4b e Fc das imunoglobulinas. A ativação dos polimorfonucleares leva à degranulação destas células, com liberação de enzimas lisossômicas, bem como à produção de radicais livres de oxigênio. Além disso, os imuno-complexos tendem a ligar-se aos tecidos colagenosos e a cartilagem, podendo ocorrer "in situ" a ativação do Complemento, com conseqüente lesão tecidual através do complexo lítico de membrana (C5b-9) e da liberação de enzimas lisossomais das células inflamatórias (COOKE & JASIN, 1972; COOKE et al., 1972). Além disto, é importante salientar, o papel do Complemento na solubilização de imuno-complexos, prevenindo a formação de imuno-complexos grandes e insolúveis, e auxiliando na eliminação destes, através dos receptores para C3b e C4b nas células inflamatórias.

As enzimas lisossomais que degradam a cartilagem, como a collagenase e a elastase, são basicamente derivadas de células inflamatórias. As proteinases parecem colaborar na destruição da cartilagem superficial devido a sua capacidade de desfazer as ligações das fibrilas do colágeno, permitindo assim, que estas estruturas sofram posteriormente uma degradação enzimática. Além disto, a produção de prostaglandinas, enzimas hidrolíticas, collagenase, ativador de plasminogênio e interleucina 1 pelos macrófagos constituem sem dúvida, importantes mediadores da destruição tecidual (SNYDERMAN, 1986). Em seu conjunto, a AR demonstra o devastador potencial de destruição tecidual local das reações inflamatórias crônicas produzidas pelos imuno-complexos nos tipos de hipersensibilidade retardada das reações imunológicas, onde sem dúvida o sistema Complemento desempenha um papel fundamental, tanto no processamento e eliminação dos imuno-complexos, como na intensificação da resposta inflamatória com conseqüente lesão tecidual.

Com relação ao papel das diferentes variantes genéticas do Complemento na AR, o estudo do polimorfismo de BF, C3 e C4 em

diferentes populações tem demonstrado associações importantes, sugerindo a sua participação como prováveis marcadores da doença, o que sem dúvida pode contribuir para uma melhor compreensão da etiopatogenia da doença, como já comentamos anteriormente.

Os genes da classe III do MHC que codificam os componentes C2, C4 e BF do Complemento são também de interesse devido a sua localização próxima aos genes que participam da regulação da resposta imune, entre os loci HLA-B e HLA-DR, além de suas importantes propriedades biológico-funcionais (PORTER, 1983). Além disso, os genes da classe III do MHC podem estar envolvidos na suscetibilidade da AR ou mesmo participarem como genes modificadores da doença (DYER et al., 1986).



## 2. OBJETIVO E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

Este estudo tem como objetivo verificar a distribuição das variantes genéticas de C4A, C4B, C3 e BF do sistema Complemento, em pacientes brasileiros portadores de Artrite Reumatóide. A finalidade desta análise, é identificar a existência ou não de associação entre as diferentes variantes genéticas destes componentes e fatores importantes ligados ao desenvolvimento da doença, tais como: história familiar, comprometimento extra-articular/deformidades, classe funcional e uso de drogas de ação lenta; com a perspectiva de se determinar possíveis marcadores da AR em nosso meio.

A identificação de marcadores genéticos associados ao Complemento na AR, poderá ser de grande auxílio no diagnóstico, prognóstico e conduta terapêutica, beneficiando significativamente a abordagem clínica destes pacientes.

Devido a ocorrência da grande miscigenação racial na nossa população, existe a possibilidade de que outros alótipos possam estar associados com a doença no Brasil, o que poderá contribuir para uma melhor elucidação dos mecanismos etiopatogênicos da AR. Cabe salientar, que até o momento, não existe nenhum estudo sobre a distribuição de alelos do Complemento em Artrite Reumatóide no Brasil, sendo este o trabalho pioneiro.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 PACIENTES

Os pacientes foram selecionados e acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Um total de 61 pacientes foram estudados, todos apresentavam Artrite Reumatóide soro-positiva (Fator Reumatóide Látex e ou Waaler Rose positivos), preenchendo os critérios diagnósticos da Associação Americana de Reumatologia (ARA) (ARNETT et al., 1988). Cinquenta pacientes eram do sexo feminino (81,9%) e 11 eram do sexo masculino (18,1%). A variação etária foi de 20 a 75 anos, com uma idade média de 47,3 anos. A idade inicial ao ser diagnosticada a doença, compreendia pacientes dos 18 aos 65 anos, com uma idade média de 39,04 anos. O tempo de duração da doença, até a época da análise dos dados, foi de 1 ano a 30 anos, sendo que o tempo médio de duração da doença foi de 8,21 anos.

A classificação racial dos pacientes e dos controles foi feita de acordo com a cor da pele, traços fisionômicos e ascendência, sendo que como brancos brasileiros foram classificados os indivíduos brancos cujos ancestrais estavam já pelo menos 4 gerações no Brasil, e que não conheciam a história de sua origem. Como brancos europeus foram classificados os indivíduos brancos com origem europeia conhecida. Os indivíduos mulatos claros, médios e negros foram classificados segundo as características fisionômicas e cor da pele. A distribuição étnica compreendeu então: 37 Brancos Brasileiros (BB= 60,7%), 13 Brancos Europeus (BE= 21,3%), 5 Mulatos Claros (MC= 8,2%), 4 Mulatos Médios (MM= 6,5%) e 2 Negros (N= 3,3%).

Os pacientes foram classificados quanto a sua capacidade funcional, segundo STEINBROCKER et al., (1949) sendo que 30 pacientes (49,18%) apresentavam-se na classe funcional I e II, e 31 pacientes (50,82%) na classe funcional III e IV. Destes 31 pacientes classe funcional III e IV, 8 (25,8%) apresentavam história familiar de AR, 17 (54,8%) tinham comprometimento extra-articular deformidades, e 21 (67,7%) utilizaram drogas de ação lenta no tratamento da doença.

A presença de antecedentes familiares com AR foi observada em 16 pacientes (26,23%). Destes 16 pacientes com história familiar, 8 (50%) eram classe funcional III e IV, 6 (37,5%) tinham comprometimento extra-articular/deformidades, e 12 (75%) usaram drogas de ação lenta no controle terapêutico da doença.

Dos 61 pacientes, 26 (42,6%) apresentaram comprometimento extra-articular e ou deformidades no decorrer da doença. Destes 26 pacientes, 6 (23,1%) tinham história familiar de AR, 17 (65,4%) eram classe funcional III e IV, e 19 (73%) utilizaram drogas de ação lenta como tratamento.

Quanto ao tratamento medicamentoso, todos pacientes estavam utilizando como manutenção anti-inflamatórios não hormonais e corticóide (prednisona) em baixa dose (< que 10 mg/dia). Além disto, quarenta e cinco pacientes (73,77%) utilizaram drogas de ação lenta (cloroquina, auranofin ou methotrexate) visando o melhor controle sintomático e/ou progressão da doença. Destes 45 pacientes, 12 (26,7%) apresentavam história familiar de AR, 21 (46,7%) eram classe funcional III e IV, e 17 (37,7%) tinham comprometimento extra-articular/deformidades (Vide ANEXOS).

### 3.2 CONTROLES

Os controles sadios foram selecionados entre os doadores do Banco de Sangue, e no Serviço de Pré-Natal do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Um total de 61 indivíduos foram pareados com os pacientes de acordo com o sexo, com a classificação racial e com a maior proximidade possível da idade. A distribuição etária dos controles abrangeu indivíduos entre 18 e 62 anos, com uma idade média de 33,22 anos (Vide ANEXOS). O pareamento quanto a distribuição étnica foi igual a do grupo dos pacientes.

### 3.3 PLASMA E SORO

Foram coletados 20 ml de sangue venoso de todos os pacientes e controles, sendo 10 ml sem anticoagulante e 10 ml com EDTA 0,2M, pH 7,4 para obtenção de plasma. O sangue com EDTA foi mantido no gelo até um período máximo de uma hora, quando então as amostras foram centrifugadas a 4°C, e o plasma aliquoteado. O sangue sem anticoagulante foi mantido à temperatura ambiente por um período de 30 minutos ou até coagulação completa, e uma hora a 4°C, a seguir centrifugado a 4°C, sendo o soro dividido em alíquotas. As amostras após serem aliquoteadas, foram armazenadas a temperatura de -80°C.

A tipagem eletroforética de C3 e BF foi realizada no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, enquanto que a tipagem de C4 foi realizada em colaboração com o Instituto de Microbiologia Médica e Higiene, de Colonia, Alemanha. As amostras foram transportadas até Colonia em gelo seco.

### 3.4 TIPAGEM DO FATOR B (BF)

As variantes polimórficas de BF foram detectadas através de eletroforese sob alta voltagem, em gel de agarose, seguida de imunofixação com anti-soro anti-BF, de acordo com ALPER et al., (1972). As amostras de soro foram aplicadas em gel contendo 0,8% de agarose (Seakem ME, Marine Colloids, USA) em tampão barbital, pH 8,6 (0,0008M de lactato de cálcio; 0,023M de barbital sódico; 0,0037M de ácido barbitúrico) e submetidas a eletroforese de alta voltagem (400V, 100mA e 40W), durante 3 horas, sob constante refrigeração a 8°C.

Para o preparo da placa utilizou-se 35 ml de gel de agarose, que foi aplicado sobre uma placa de vidro de 19cm / 10cm. A placa foi colocada na geladeira por 30 minutos até completa polimerização do gel. Em seguida foram aplicados 3 microlitros de soro no gel. Concomitantemente preparava-se o aparelho de eletroforese, completando-se as duas cubas laterais com a solução tampão barbital, pH 8,6. Como ponte entre o gel e o tampão utilizou-se papel filtro Whatmann nº 3. Após a eletroforese

o anticorpo anti-BF (Atlantic Antibodies, USA) diluído 1:2 (150 microlitros de anti-BF em 150 microlitros de solução salina 0,9%), foi aplicado sobre o gel com auxílio de um bastão de vidro. Após imunofixação com anti-BF durante 60 minutos em temperatura ambiente, e câmara úmida; o gel foi lavado em PBS (Tampão Salino com Fosfato) durante 18 horas, pressionado com dois quilos de peso, utilizando-se papel de filtro sobre o gel, e posteriormente secado em estufa a 37°C. Após a secagem, a placa com gel foi corada com solução corante (Coomassie Brilliant Blue R-250, Sigma, USA; em 450 ml de etanol 96%, 100 ml de ácido acético glacial e 450 ml de água destilada) por 20 minutos, em seguida descorada com solução descorante (450 ml de etanol 96%, 100 ml de ácido acético glacial e 450 ml de água destilada) por aproximadamente 10 minutos, e então a placa foi lavada em água corrente, efetuando-se a leitura das variantes de BF.

### 3.5 TIPAGEM DE C3

As variantes de C3 foram observadas através da separação eletroforética em gel de agarose 0,8% (Seakem ME, Marine Colloids, USA) em tampão barbital, pH 8,6; sob alta voltagem e constante refrigeração (400V, 100mA, 40W, 8°C), de acordo com TEISBERG, (1970). A técnica para a tipagem de C3 é semelhante a empregada para BF, somente com determinadas modificações quanto a fixação das proteínas. Para C3 os orifícios no gel de agarose foram feitos utilizando-se papel filtro, onde foram colocados 5 microlitros de soro. Após a eletroforese, o gel foi fixado em solução contendo 45% de metanol, 10% de ácido acético em água destilada, por 20 minutos. A placa foi então lavada em água comum sob imersão por 10 minutos. Colocou-se várias camadas de papel filtro sobre a placa, pressionando com dois quilos de peso, por cerca de cinco minutos. O gel foi então secado em estufa a 37°C. A seguir a placa foi corada com a solução corante (Coomassie Brilliant Blue R-250, Sigma, USA) por 20 minutos, e descorada com a solução descorante por 10 minutos. A placa foi lavada em água corrente, procedendo-se a leitura das variantes de C3.

### 3.6 TIPAGEM DE C4

Os alótipos de C4 foram determinados através de eletroforese de alta voltagem, seguida de imunofixação com anti-soro / anti-C4 humano (Atlantic Antibodies, USA), e de teste funcional hemolítico, de acordo com MAUFF et al., (1978) e AWDEH & ALPER, (1980a).

Amostras de 45 microlitros de plasma foram tratadas previamente com 5 microlitros de neuraminidase tipo VI por 18 horas e após com 5 microlitros de carboxipeptidase B por 20 minutos (Sigma, USA). A seguir foram aplicadas em gel contendo 0,75% de agarose (Seakem ME, Marine Colloids, St Louis, USA) em tampão barbitol Tris/glicina, pH 8,8-8,9 (0,2M de Tris; 0,37M de glicina; 0,03M de barbitol sódico e 0,008M de ácido barbitúrico) e submetidas a eletroforese a 400V e 50-75mA, sob constante refrigeração, durante 3 horas. Após a eletroforese o gel foi imunofixado com 200 microlitros de anti-C4 humano, diluídos 1:3 em PBS por 90 minutos a temperatura ambiente; em seguida o excesso de proteína foi retirado através de lavagem em PBS por 18 horas e o gel pressionado, secado, corado e descorado com as mesmas soluções utilizadas para BF e C3.

Além da imunofixação as variantes foram também detectadas através de hemólise, após incubação em câmara úmida durante aproximadamente 60 minutos a 37°C, das bandas separadas eletroforéticamente com um "overlay" de gel contendo 4% de eritrócitos de carneiro sensibilizados, e 3% de soro de cobaia deficiente em C4. Após a visualização das bandas hemolíticas, a camada de gel "overlay", foi então retirada e fixada por 20 minutos em PBS com 1% de glutaraldeído, pressionada e secada a temperatura ambiente.

Para a definição de alguns alótipos foi empregada a técnica de eletroforese prolongada, seguida de imunofixação (DOXIADES & GROSSE-WILDE, 1990). Amostras de 5 microlitros de plasma tratadas com neuraminidase e carboxipeptidase foram aplicadas em gel a 0,5% de agarose Seakem ME em tampão tris-glicina (0,2M glicina; 1,0M tris, pH 8,9). O gel foi preparado sobre um filme de eletroforese (20 / 26 cm) (Electrophoresis Film Sigma), depois da polimerização a temperatura ambiente, foi deixado em câmara úmida a 4°C durante 18 horas. A eletroforese foi executada sob refrigeração constante (8°C) durante 4 horas; nos 10 primeiros minutos a 30W, 200mA e 2000V; nos seguintes 60 minutos a 50W, e

finalmente a 75W até o término da eletroforese. Em seguida o gel foi incubado com 200 microlitros de anti-soro anti-C4 humano (Atlantic Antibodies) diluído 1:2 em PBS por 90 minutos, em câmara escura a temperatura ambiente. Após lavagem em solução salina 0,9% durante 18 horas, o gel foi pressionado, secado, clorado e descorado, como para BF.

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As frequências alotípicas e alélicas de C3 e BF foram calculadas através de contagem direta. As frequências genotípicas foram testadas para o equilíbrio da lei de HARDY-WEINBERG (MAUFF, 1986). As frequências alotípicas dos pacientes e controles foram comparadas com o teste do chi-quadrado ( $\chi^2$ ), e a avaliação da probabilidade estatística determinada através do teste exato de FISCHER (p de FISCHER), utilizando-se o programa de computador "MICROSTAT".

A determinação bioestatística dos alelos de C4 não expressos, tanto em forma homizigota como em indivíduos parcialmente deficientes em C4, foi baseada na leitura semiquantitativa das bandas de C4 e no cálculo do chi-quadrado mínimo, de acordo com o equilíbrio de HARDY-WEINBERG, utilizando-se para isso um programa de computador específico (CLERGET-DARPOUX et al., 1988).

Nos casos em que foram observadas associações estatisticamente significantes, determinou-se o Risco Relativo (RR) através do cálculo abaixo, de acordo com RYDER & SVEJGAARD, (1981).

$$RR = \frac{\text{pacientes com o marcador} \times \text{controles sem o marcador}}{\text{pacientes sem o marcador} \times \text{controles com o marcador}}$$

## 4. RESULTADOS

### 4.1 FATOR B (BF)

Os alótipos de BF observados através da imuno-eletroforese foram BF S, BF F e BF SF (FOTO 1). As frequências fenotípicas e gênicas de BF, assim como o resultado comparativo entre os grupos dos pacientes e dos controles, podem ser observados na TABELA 1. A distribuição das frequências observadas estão de acordo com as esperadas, segundo a lei de HARDY-WEINBERG. Nenhuma variante rara foi observada, tanto nos pacientes como nos controles. As frequências gênicas de BF\*S e BF\*F encontradas, se assemelham às descritas na literatura para outras populações caucasóides que apresentam uma frequência de BF\*S= 0,779 a 0,812; e de BF\*F=0,188 a 0,221; na raça negra, no entanto, o alelo F é predominante (S=0,282, F=0,655) (MAUFF et al., 1975).

Diferentes comparações foram realizadas envolvendo o espectro clínico, história familiar e tratamento; assim como foram comparados os diferentes grupos de pacientes com os controles normais. As análises comparativas abrangendo o comprometimento extra-articular/deformidades, história familiar, e uso de drogas de ação lenta; não evidenciaram resultados estatisticamente significantes, quando foram comparados os diferentes grupos de pacientes entre si, nem quando comparou-se pacientes com controles normais (TABELAS III a XIV). No entanto, na comparação quanto as classes funcionais da AR, observou-se uma diminuição significativa do alótipo BF SF nos grupo de pacientes com classe funcional III e IV ( $7/31 = 22,5\%$ ), quando comparados com o grupo de pacientes com AR classe funcional I e II ( $14/30 = 46,6\%$ ), determinando um resultado estatisticamente significativo ( $p=0,0432$ ), e um risco relativo (RR) de 0,3 (TABELA XI). O resultado significativo envolvendo BF está demonstrado no QUADRO 4 e GRÁFICO 2.



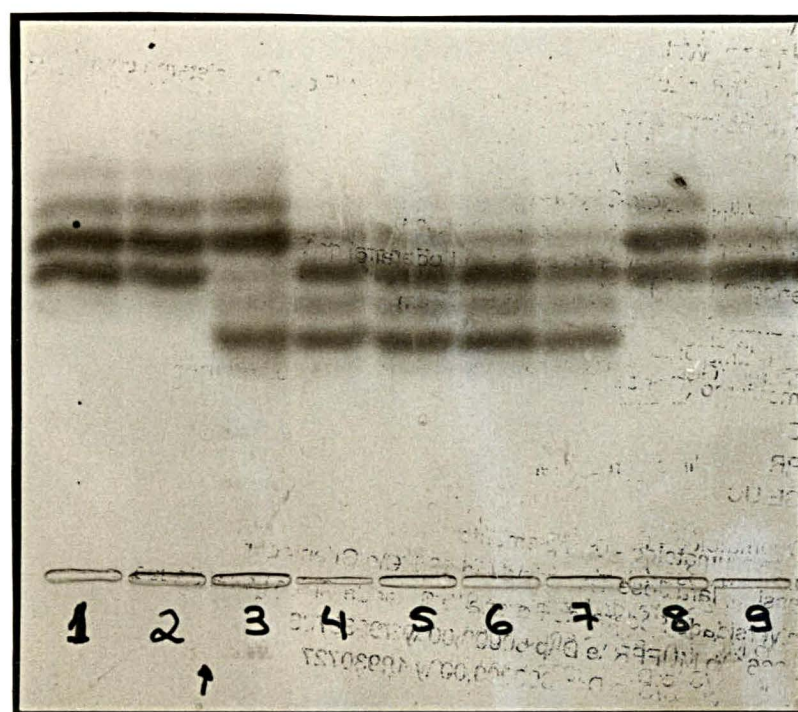


FOTO.1. Alótipos de BF detectados através de eletroforese de alta voltagem em gel de agarose e imunofixação. (1, 2, 8=SF; 3=FS07; 4, 5, 6, 7=SS07; e 9=S)

TABELA.I. FREQUÊNCIAS GÊNICAS E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF ENTRE PACIENTES COM AR, E CONTROLES NORMAIS

BF	Pacientes			Controles			$\chi^2$	p de FISCHER
	ALÓTIPO (n)	%	FREQ.GÊN.	ALÓTIPO (n)	%	FREQ.GÊN.		
S	39	64	0.812	36	59	0.779	0.138	0.355
SF	21	34.4	-	23	37.7	-	0.036	0.4253
F	1	1.6	0.188	2	3.3	0.221	0.342	0.5
Total	61	100	1	61	100	1	0.516	-
(n)= número observado			$\chi^2$ = Qui-quadrado		FREQ.GÊN.= Frequência Gênica			

TABELA.II. FREQUÊNCIAS GÊNICAS E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE C3 ENTRE PACIENTES COM AR, E CONTROLES NORMAIS

C3	Pacientes			Controles			$\chi^2$	p de FISCHER
	ALÓTIPO (n)	%	FREQ.GÊN.	ALÓTIPO (n)	%	FREQ.GÊN.		
S	42	68.8	0.844	44	72.1	0.844	0.039	0.4214
SF	19	31.2	-	15	24.6	-	0.367	0.2725
F	-	-	0.156	2	3.3	0.156	0.508	0.2479
Total	61	100	1	61	100	1	0.914	-

TABELA.III. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM A CLASSE FUNCIONAL I E II, E CONTROLES NORMAIS

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	16	18	0.068	0.3974
BF SF	14	12	0.068	0.3974
BF F	-	-	-	-
Total	30	30	0.136	-
C3 S	23	21	0.085	0.3855
C3 SF	7	9	0.085	0.3855
C3 F	-	-	-	-
Total	30	30	0.17	-

TABELA.IV. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM A CLASSE FUNCIONAL III E IV, E CONTROLES NORMAIS

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	23	18	1.152	0.1415
BF SF	7	11	0.705	0.2009
BF F	1	2	0.35	0.5
Total	31	31	2.207	-
C3 S	19	23	0.664	0.2078
C3 SF	12	6	1.957	0.0805
C3 F	-	2	0.517	0.2459
Total	31	31	3.138	-

**TABELA.V. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR APRESENTANDO COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/DEFORMIDADES, E CONTROLES NORMAIS**

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	17	15	0.081	0.388
BF SF	9	11	0.081	0.388
BF F	-	-	-	-
Total	26	26	0.162	-
C3 S	16	20	0.813	0.1839
C3 SF	10	5	1.499	0.1102
C3 F	-	1	1.02	0.5
Total	26	26	3.332	-

**TABELA.VI. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR SEM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/DEFORMIDADES, E CONTROLES NORMAIS**

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	22	21	0.06	0.5
BF SF	12	12	0.063	0.5992
BF F	1	2	0.348	0.5
Total	35	35	0.471	-
C3 S	26	24	0.07	0.3959
C3 SF	9	10	0.072	0.5
C3 F	-	1	1.014	0.5
Total	35	35	1.156	-

**TABELA.VII. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR APRESENTANDO HISTÓRIA FAMILIAR, E CONTROLES NORMAIS**

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	10	7	0.502	0.2397
BF SF	6	8	0.127	0.3612
BF F	-	1	1.032	0.5
Total	16	16	1.661	-
C3 S	12	12	0.167	0.6575
C3 SF	4	3	0.183	0.5
C3 F	-	1	1.032	0.5
Total	16	16	1.382	-

**TABELA.VIII. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR SEM HISTÓRIA FAMILIAR, E CONTROLES NORMAIS**

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	29	29	0.048	0.587
BF SF	15	15	0.05	0.5883
BF F	1	1	0.511	0.7528
Total	45	45	0.609	-
C3 S	30	32	0.052	0.4101
C3 SF	15	12	0.212	0.323
C3 F	-	1	1.011	0.5
Total	45	45	1.275	-

TABELA.IX. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR QUE USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA, E CONTROLES NORMAIS

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	30	25	0.748	0.1936
BF SF	14	18	0.436	0.2546
BF F	1	2	0.345	0.5
Total	45	45	1.529	-
C3 S	32	34	0.057	0.406
C3 SF	13	11	0.057	0.406
C3 F	-	-	-	-
Total	45	45	0.114	-

TABELA.X. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR QUE NÃO USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA, E CONTROLES NORMAIS

ALÓTIPO	PACIENTES (n)	CONTROLES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	8	11	0.518	0.2363
BF SF	8	5	0.518	0.2363
BF F	-	-	-	-
Total	16	16	1.036	-
C3 S	10	10	0.133	0.642
C3 SF	6	4	0.145	0.3521
C3 F	-	2	0.533	0.1441
Total	16	16	0.811	-

TABELA.XI. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR CLASSE FUNCIONAL I E II, E PACIENTES CLASSE FUNCIONAL III E IV

ALÓTIPO	PACIENTES CLASSE FUNCIONAL I E II (n)	PACIENTES CLASSE FUNCIONAL III E IV (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	16	23	2.044	0.1528
BF SF	14	7	2.924	0.0432
BF F	-	1	0.984	0.5082
Total	30	31	5.952	-
C3 S	23	19	1.04	0.1539
C3 SF	7	12	1.04	0.1539
C3 F	-	-	-	-
Total	30	31	2.08	-

TABELA.XII. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR APRESENTANDO COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR / DEFORMIDADES, E PACIENTES SEM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR / DEFORMIDADES

ALÓTIPO	PACIENTES COM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/ DEFORMIDADES (n)	PACIENTES SEM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/ DEFORMIDADES (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	17	22	0.004	0.5279
BF SF	9	12	0.06	0.5952
BF F	-	1	0.023	0.5738
Total	26	35	0.087	-
C3 S	16	26	0.614	0.2163
C3 SF	10	9	0.614	0.2163
C3 F	-	-	-	-
Total	26	35	1.228	-

TABELA.XIII. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR APRESENTANDO HISTÓRIA FAMILIAR DE AR, E PACIENTES SEM HISTÓRIA FAMILIAR DE AR

ALÓTIPO	PACIENTES COM HISTÓRIA FAMILIAR DE ARTRITE REUMATÓIDE (n)	PACIENTES SEM HISTÓRIA FAMILIAR DE ARTRITE REUMATÓIDE (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	10	29	0.027	0.5595
BF SF	6	15	0.091	0.4957
BF F	-	1	0.297	0.7377
Total	16	45	0.415	-
C3 S	12	30	0.092	0.3879
C3 SF	4	15	0.092	0.3879
C3 F	-	-	-	-
Total	16	45	0.184	-

TABELA.XIV. COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA DE BF E C3 ENTRE PACIENTES COM AR QUE USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA, E PACIENTES QUE NÃO USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA

ALÓTIPO	PACIENTES QUE USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA (n)	PACIENTES QUE NÃO USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA (n)	$\chi^2$	p de FISCHER
BF S	30	8	0.776	0.1885
BF SF	14	8	1.099	0.1474
BF F	1	-	0.297	0.7377
Total	45	16	2.172	-
C3 S	32	10	0.105	0.3667
C3 SF	13	6	0.105	0.3667
C3 F	-	-	-	-
Total	45	16	0.21	-



## 4.2 C3

Os fenótipos de C3 observados no presente estudo foram: C3 S, C3 F e C3 SF (FOTO 2). As frequências fenotípicas e gênicas de C3 nos pacientes e nos controles, assim como a comparação entre pacientes e controles, podem ser observadas na TABELA II. A distribuição das frequências observadas tanto nos pacientes como nos controles, estão de acordo com a lei de HARDY-WEINBERG. Não houve nenhum resultado estatisticamente significativo quanto a comparação da distribuição dos alótipos de C3, entre os pacientes e os controles ( $p > 0,05$ ).

Nas comparações entre os pacientes, também não foi observado nenhum resultado estatisticamente significativo quanto a distribuição dos alótipos de C3 e a classe funcional da AR, o comprometimento extra-articular e deformidades, a história familiar da doença e o uso de drogas de ação lenta (TABELAS III a XIV). Embora, uma frequência maior de C3\*SF (12/31 pacientes = 38,7% X 6/31 controles = 19,35%) foi observada nos pacientes classe funcional III e IV, quando comparados com os controles normais ( $p=0,0805$ ) (TABELA IV).

O alelo raro C3\*S05 foi observado num paciente e num controle, sendo que para a análise da frequência gênica, estes foram classificados como sendo fenótipo C3 S.

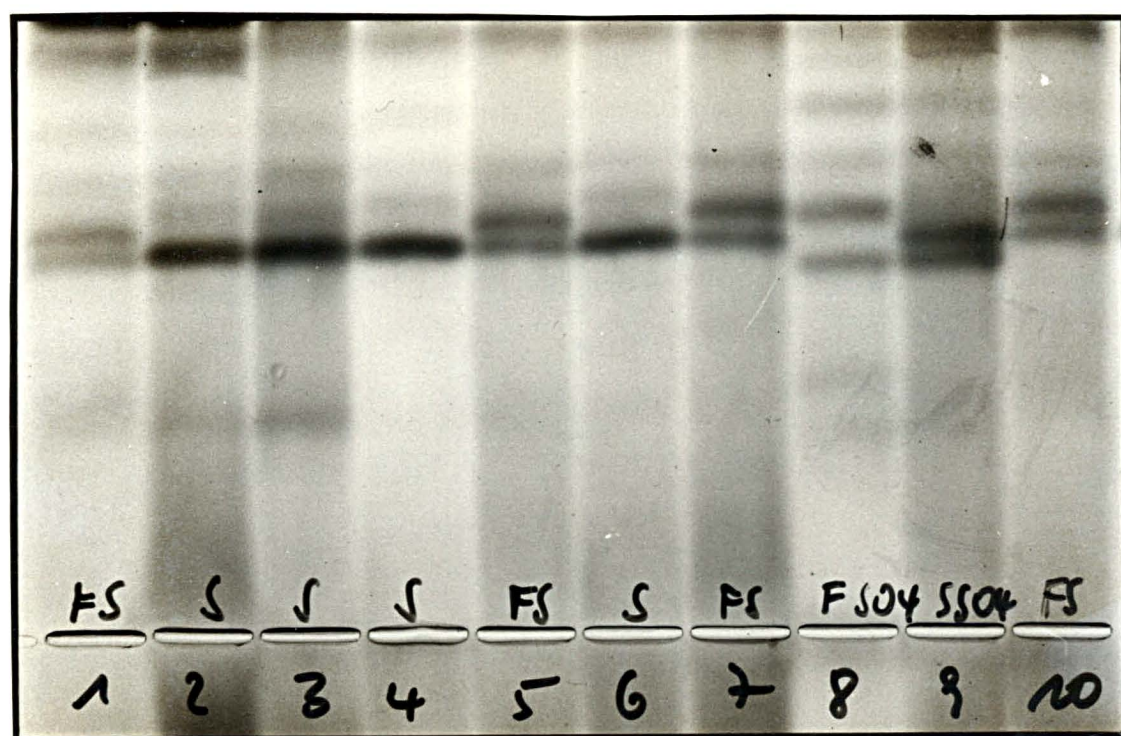


FOTO.2. Alótipos de C3 detectados através de eletroforese de alta voltagem em gel de agarose.

### 4.3 C4.

A distribuição dos alótipos de C4A e C4B observados nos pacientes com AR e nos controles normais, estão demonstrados na TABELA XV. Estes resultados estão de acordo com a lei de HARDY-WEIBERG. Na TABELA XVI estão demonstradas as frequências gênicas de C4A e C4B nos pacientes e nos controles, assim como o resultado da comparação da distribuição destes alótipos entre ambos os grupos. Na FOTO 3 podem ser observados alguns alótipos de C4 determinados através de eletroforese de alta voltagem, e na FOTO 4, através de eletroforese prolongada em gel de agarose, seguida de imunofixação.

A comparação da distribuição dos alelos de C4A entre o número total dos pacientes e dos controles não demonstrou nenhuma diferença estatisticamente significativa. O alelo com maior frequência observada para o locus C4A foi \*A3 (0,575 nos pacientes X 0,667 nos controles) e para o locus C4B foi \*B1 (0,642 nos pacientes X 0,708 nos controles).

Quanto a distribuição das frequências alélicas de C4B, observou-se uma diminuição estatisticamente significativa de C4\*B2 nos pacientes, quando comparados com os controles (0,092; 11/61, 18,1% nos pacientes X 0,184; 21/61, 34,4% nos controles;  $p=0,0396$ ), determinando um risco relativo de 0,4 (TABELA XVI, GRÁFICO 1).

O resultado mais interessante obtido das comparações efetuadas entre o grupo total de pacientes e controles foi o aumento estatisticamente significativo do alelo nulo de C4B (C4B\*Q0) nos pacientes (0,192; 21/61, 34,4% nos pacientes X 0,067; 8/61, 13,1% nos controles;  $p=0,0049$ ), conferindo um risco relativo de 3,5 (TABELA XVI, GRÁFICO 1). O fato que chama atenção é a presença de dois indivíduos homozigotos C4B\*Q0 entre os pacientes, o que não foi observado em nenhum dos controles (TABELA XV).

Observou-se 3 heteroduplicações de C4A nos pacientes (A6,3,12 - A6,3,12 - A6,3,2), chamando atenção o fato de que as três duplicações envolveram o alelo C4\*A6; e que o alelo C4\*A6 somente esteve presente nestes 3 pacientes (4,9%) do total de 61 estudados, enquanto que este não foi detectado em nenhum dos controles (ANEXO 7). Nos controles foi observada apenas uma

duplicação de C4A (A4,3,2). No locus B observou-se apenas uma duplicação nos pacientes (C4\*B5,11,1) e nenhuma no grupo controle.

As demais comparações realizadas quanto a distribuição dos alótipos de C4A e de C4B se relacionaram aos dados clínicos dos pacientes como: a classe funcional da AR, o comprometimento extra-articular e deformidades, a história familiar de AR e o uso de drogas de ação lenta. Nestas comparações observou-se um aumento de C4A\*Q0 nos pacientes apresentando comprometimento extra-articular/deformidades (15/26; 57,7%), quando comparados com o grupo de pacientes sem comprometimento extra-articular/deformidades (10/35; 28,6%), determinando um resultado estatisticamente significativo ( $p=0,0214$ ), e um risco relativo de 3,4 (TABELA XVII, GRÁFICO 3).

Na comparação entre os pacientes com e sem história familiar de AR, observou-se um aumento de C4A\*Q0 no grupo com história familiar (8/16; 50%), em relação ao grupo de pacientes sem história familiar (8/45; 17,7%;  $p=0,0166$ ), determinando um risco relativo de 4,6. Verificou-se também, o aumento de C4B\*Q0 no grupo com história familiar de AR (11/16; 68,7%), quando comparados com os pacientes sem história familiar (10/45; 22,2%;  $p=0,0012$ ), determinando um risco relativo de 7,7 (TABELA XVIII, GRÁFICO 4).

Quanto ao tratamento, observou-se uma diminuição de C4\*A2 nos pacientes que usaram drogas de ação lenta (2/45; 4,4%), quando comparados com os pacientes que não utilizaram estas drogas no seu tratamento (5/16; 31,3%;  $p=0,0108$ ), risco relativo de 0,1. Por outro lado, observou-se um aumento de C4\*AQ0 no grupo de pacientes que não usaram droga de ação lenta (8/16; 50%), em relação aos pacientes que usaram drogas de ação lenta (8/45; 17,7%;  $p=0,0166$ ), risco relativo de 4,6 (TABELA XIX, GRÁFICO 5).

Na avaliação dos pacientes quanto a classe funcional da AR, observou-se somente uma diminuição de C4\*B2 nos pacientes com AR classe funcional III e IV (3/31; 9,67%), quando comparados com os pacientes classe funcional I e II (9/30; 30%;  $p=0,0460$ ), risco relativo de 0,24 (TABELA XX, GRÁFICO 2). Para os demais alelos de C4A e C4B não foram encontrados resultados estatisticamente significantes, nas diferentes comparações realizadas.

Os resultados significativos envolvendo os alótipos de C4A e de C4B estão sintetizados no QUADRO 4.

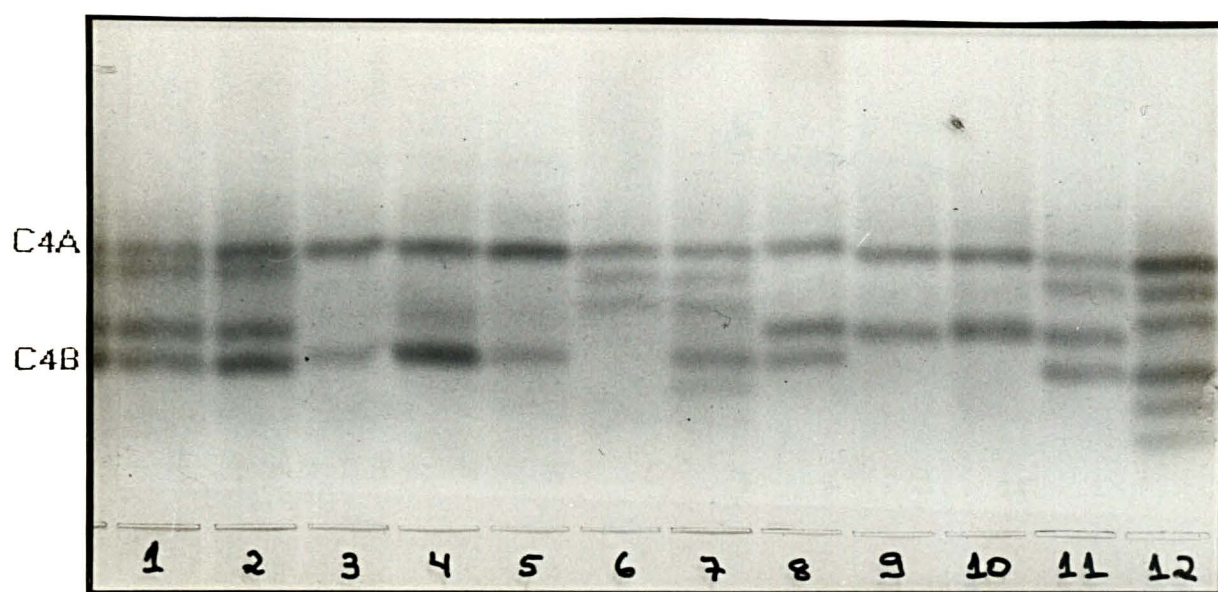


FOTO.3. Alótipos de C4A e C4B observadas após eletroforese em gel de agarose seguida de imunofixação, com soros tratados com neuraminidase (6, 7, 12) e neuraminidase + carboxipeptidase (1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11).  
 (1, 2, 11 = A3,2 B1,2); (3, 4, 5, 7, 12 = A3 B1); (6 = A3 BQ0); (8 = A4 B2,1); (9 = A3 B2); (10 = A3 B22,2)

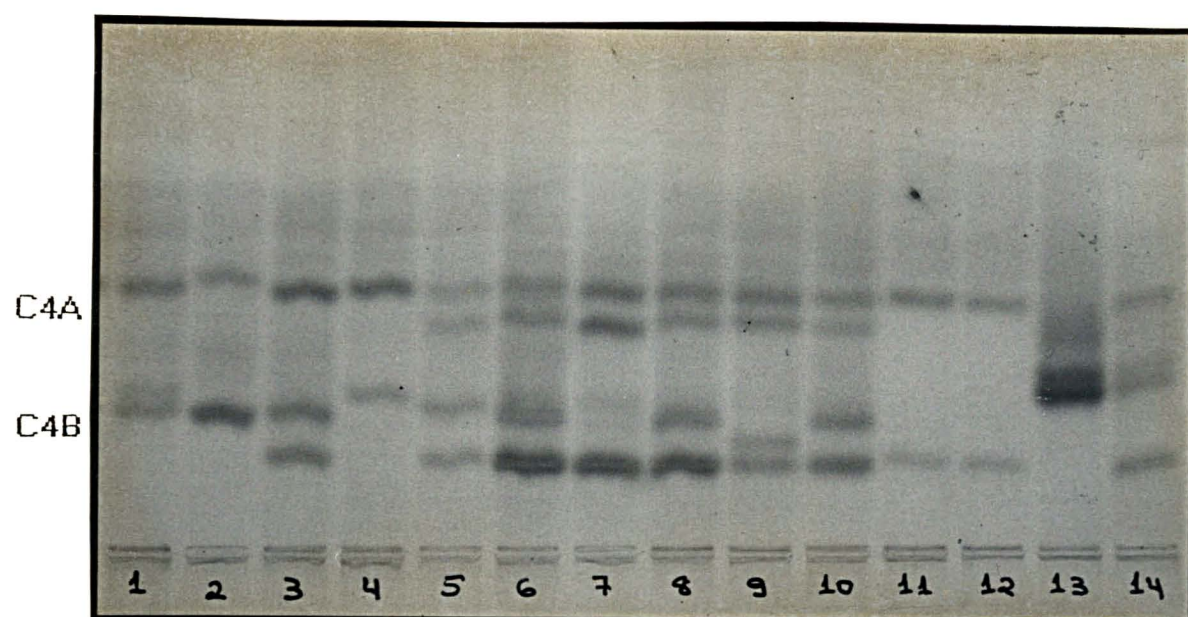


FOTO.4. Alótipos de C4A e C4B observados após eletroforese prolongada, seguida de imunofixação, utilizando-se soros tratados com neuraminidase e carboxipeptidase. (1 = A3 B3,2); (2 = A4 B2); (3 = A3 B2,1); (4 = A3 B2,2); (5, 6, 14 = A3,2 B2,1); (7 = A3,2 B1); (8 = A3,2,2 B2,1); (9 = A3,2 B1,1,1); (11, 12 = A3 B1); (13 = A9,1,2 BQ0); (14 = A3,12,91 B1)



QUADRO.4. ASSOCIAÇÕES OBSERVADAS NO PRESENTE ESTUDO

ALELO	Grupo de Comparação	p	RR
BF*SF ↓ nos pacientes classe funcional III e IV	Pacientes classe funcional I e II	0,0432	0,3
C4*A2 ↓ nos pacientes que usaram drogas de ação lenta	Pacientes que não usaram drogas de ação lenta	0,0108	0,1
C4*B2 ↓ nos pacientes	Controles normais	0,0396	0,4
C4*B2 ↓ nos pacientes classe funcional III e IV	Pacientes classe funcional I e II	0,0460	0,24
C4A*Q0 ↑ nos pacientes com história familiar de AR	Pacientes sem história familiar de AR	0,0166	4,6
C4A*Q0 ↑ nos pacientes com comprometimento extra-articular/deformidades	Pacientes sem comprometimento extra-articular/deformidades	0,0214	3,4
C4A*Q0 ↑ nos pacientes que não usaram drogas de ação lenta	Pacientes que usaram drogas de ação lenta	0,0166	4,6
C4B*Q0 ↑ nos pacientes	Controles normais	0,0049	3,5
C4B*Q0 ↑ nos pacientes com história familiar de AR	Pacientes sem história familiar de AR	0,0012	7,7
*RR = Risco Relativo ↑ = Frequência aumentada		p = Teste exato de FISCHER ↓ = Frequência diminuída	

TABELA.XV. ALÓTIPOS DE C4A e C4B OBSERVADOS NOS PACIENTES COM AR E NOS CONTROLES NORMAIS

ALÓTIPO C4	Pacientes (n)	% Pacientes	Controles (n)	% Controles
A1A3	1	1.64	-	-
A2A3	4	6.56	7	11.48
A2A4	1	1.64	2	3.28
A2Q0	2	3.28	-	-
A3A3	29	47.54	27	44.27
A3A4	6	9.84	12	19.66
A3DA	3	4.92	1	1.64
A3Q0	12	19.66	8	13.11
A4A4	1	1.64	1	1.64
A4Q0	2	3.28	1	1.64
A6Q0	-	-	1	1.64
A8Q0	-	-	1	1.64
TOTAL	61	100.00	61	100.00
B1B1	25	40.98	30	49.18
B1B2	9	14.75	17	27.86
B1B3	2	3.28	4	6.56
B1B4	1	1.64	-	-
B1B5	1	1.64	-	-
B1DA	1	1.64	-	-
B1Q0	15	24.59	6	9.84
B2B2	-	-	1	1.64
B2B28	-	-	1	1.64
B2Q0	2	3.28	2	3.28
B3B5	1	1.64	-	-
B3Q0	1	1.64	-	-
B22Q0	1	1.64	-	-
Q0Q0	2	3.28	-	-
TOTAL	61	100.00	61	100.00

DA= ALELOS DUPLICADOS      Q0= ALELOS NULOS



TABELA XVI. FREQUÊNCIAS GÊNICAS DE C4A\* E DE C4B\* EM PACIENTES COM AR E CONTROLES, E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA ENTRE AMBOS OS GRUPOS.

ALELO	Pacientes		Controles		COMPARAÇÃO	
	(n)	FREQ.GÊN.	(n)	FREQ.GÊN.	$\chi^2$	p de FISCHER
C4*A1	1	0.01	-	-	1.008	0.5
C4*A2	7	0.074	9	0.075	0.072	0.3947
C4*A3	55	0.575	55	0.667	0.081	0.6113
C4*A4	10	0.106	16	0.142	1.222	0.1344
C4*A6	3	0.032	1	0.008	0.258	0.3094
C4*A8	-	-	1	0.008	1.008	0.5
C4A*DA	3	0.032	1	0.008	0.258	0.3094
C4A*Q0	16	0.171	11	0.092	0.761	0.1916
TOTAL	Em 61 pacientes	1	Em 61 controles	1	4.668	-
C4*B1	54	0.642	57	0.708	0.344	0.3787
C4*B2	11	0.092	21	0.184	3.431	0.0396
C4*B22	1	0.008	-	-	1.008	0.5
C4*B28	-	-	1	0.008	1.008	0.5
C4*B3	4	0.033	4	0.033	0.134	0.6414
C4*B4	1	0.008	-	-	1.008	0.5
C4*B5	2	0.017	-	-	0.508	0.1539
C4B*DA	1	0.008	-	-	1.008	0.5
C4B*Q0	21	0.192	8	0.067	6.514	0.0049
TOTAL	Em 61 pacientes	1	Em 61 controles	1	14.963	-

DA=ALELOS DUPLICADOS

Q0=ALELOS NULOS

(n)= Número de vezes que o alelo está presente

TABELA XVII. FREQUÊNCIAS GÊNICAS DE C4A\* E DE C4B\*, E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA ENTRE PACIENTES COM AR APRESENTANDO COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/ DEFORMIDADES, E PACIENTES SEM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/DEFORMIDADES

ALELO	PACIENTES COM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/ DEFORMIDADES (n = 26)	PACIENTES SEM COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/ DEFORMIDADES (n = 35)	COMPARAÇÃO	
	FREQ.GÊN.	FREQ.GÊN.	$\chi^2$	p de FISCHER
C4*A1	-	0,014	0.023	0.5
C4*A2	0.058	0.057	0.154	0.3947
C4*A3	0.596	0.643	0.002	0.5123
C4*A4	0.058	0.1	0.284	0.3011
C4A*DA	-	0.043	0.869	0.1819
C4A*Q0	0.288	0.143	4.096	0.0214
TOTAL	1	1	5.428	-
C4*B1	0.808	0.6	0.845	0.1812
C4*B2	0.058	0.128	0.641	0.2137
C4*B22	-	0.014	0.023	0.5738
C4*B3	0.019	0.043	0.046	0.4264
C4*B4	-	0.014	0.023	0.5738
C4*B5	0.019	0.014	0.263	0.6749
C4B*Q0	0.096	0.187	0.603	0.2199
TOTAL	1	1	2.444	-
DA=ALELOS DUPLICADOS		Q0=ALELOS NULOS		

TABELA XVIII. FREQUÊNCIAS GÊNICAS DE C4A\* E DE C4B\*, E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA ENTRE PACIENTES COM AR SEM HISTÓRIA FAMILIAR, E PACIENTES COM HISTÓRIA FAMILIAR

ALELO	PACIENTES COM AR SEM HISTÓRIA FAMILIAR (n = 45)	PACIENTES COM AR COM HISTÓRIA FAMILIAR (n = 16)	COMPARAÇÃO	
	FREQ. GÊN.	FREQ. GÊN.	$\chi^2$	p de FISCHER
C4*A1	0.011	-	0.297	0.7377
C4*A2	0.033	0.143	2.309	0.07
C4*A3	0.723	0.5	0.005	0.5013
C4*A4	0.111	0.072	0.009	0.4794
C4A*DA	0.033	-	0.149	0.3943
C4A*Q0	0.089	0.286	4.778	0.0166
TOTAL	1	1	7.547	-
C4*B1	0.739	0.438	0.005	0.5013
C4*B2	0.08	0.125	0.217	0.3106
C4*B3	0.023	0.062	0.281	0.2794
C4*B4	0.011	-	0.297	0.7377
C4*B5	0.011	0.031	0.002	0.459
C4B*DA	0.011	-	0.297	0.7377
C4B*Q0	0.125	0.344	9.352	0.0012
TOTAL	1	1	10.451	-

DA=ALELOS DUPLICADOS

Q0=ALELOS NULOS

TABELA XIX. FREQUÊNCIAS GÊNICAS DE C4A\* E DE C4B\*, E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA ENTRE PACIENTES COM AR QUE USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA E PACIENTES QUE NÃO USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA

ALELO	PACIENTES COM AR QUE USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA (n = 45)	PACIENTES COM AR QUE NÃO USARAM DROGAS DE AÇÃO LENTA (n = 16)	COMPARAÇÃO	
	FREQ.GÊN.	FREQ.GÊN.	$\chi^2$	p de FISCHER
C4*A1	0,011	-	0.297	0.7377
C4*A2	0.022	0.167	5.919	0.0108
C4*A3	0.745	0.467	0.005	0.5013
C4*A4	0.111	0.066	0.009	0.4794
C4A*DA	0.022	0.033	0.149	0.6057
C4A*Q0	0.089	0.267	4.778	0.0166
TOTAL	1	1	11,157	-
C4*B1	0.622	0.600	0.094	0.4027
C4*B2	0.089	0.16	0.217	0.3106
C4*B22	0.011	-	0.297	0.7377
C4*B3	0.045	-	0.417	0.2855
C4*B4	-	0.04	0.297	0.2623
C4*B5	0.022	-	0.002	0.541
C4B*DA	0.011	-	0.297	0.7377
C4B*Q0	0.2	0.2	0.097	0.5043
TOTAL	1	1	1.718	-

DA=ALELOS DUPLICADOS

Q0=ALELOS NULOS

TABELA XX. FREQUÊNCIAS GÊNICAS DE C4A\* E DE C4B\*, E COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ALOTÍPICA ENTRE PACIENTES COM AR CLASSE FUNCIONAL I E II, E PACIENTES CLASSE FUNCIONAL III E IV

ALELO	PACIENTES COM AR CLASSE FUNCIONAL I E II (n = 30)	PACIENTES COM AR CLASSE FUNCIONAL III E IV (n = 31)	COMPARAÇÃO	
	FREQ. GÊN.	FREQ. GÊN.	$\chi^2$	p de FISCHER
C4*A1	-	0,016	0,984	0,5082
C4*A2	0,033	0,097	1,184	0,1382
C4*A3	0,667	0,597	0,574	0,2261
C4*A4	0,083	0,113	0,084	0,6126
C4A*DA	0,033	0,016	0,001	0,4875
C4A*Q0	0,184	0,161	0,009	0,4629
TOTAL	1	1	2,836	-
C4*B1	0,643	0,758	0,001	0,4841
C4*B2	0,101	0,049	2,802	<b>0,046</b>
C4*B22	0,024	-	1,051	0,4918
C4*B3	0,024	0,032	0,001	0,5125
C4*B5	0,024	0,016	0,484	0,7459
C4B*DA	-	0,016	0,984	0,5082
C4B*Q0	0,184	0,129	0,856	0,1776
TOTAL	1	1	6,179	-

DA=ALELOS DUPLICADOS

Q0=ALELOS NULOS

GRÁFICO.1. ALELOS DE C4 ASSOCIADOS A AR QUANDO COMPARADOS COM CONTROLES NORMAIS

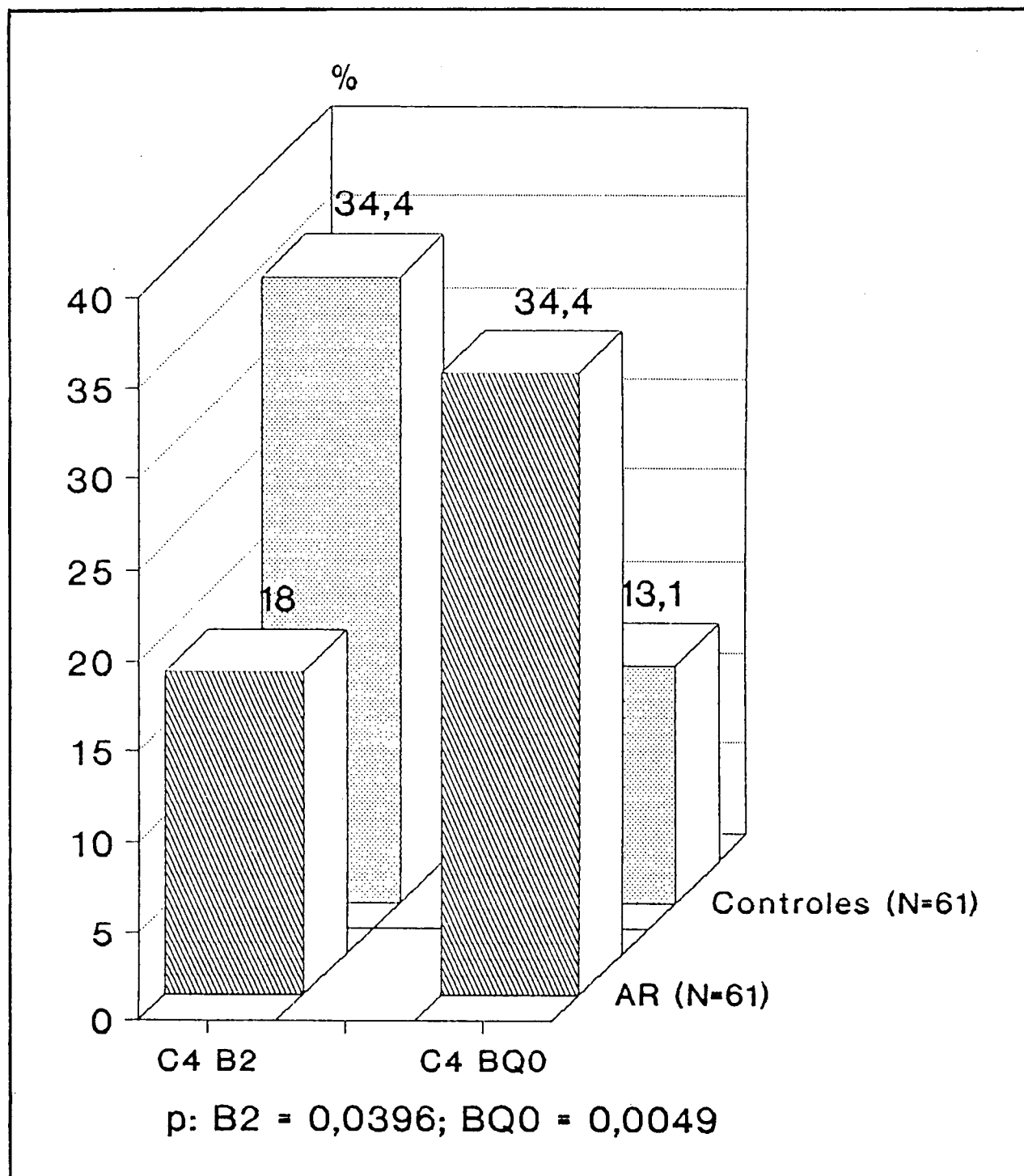


GRÁFICO.2. ALELOS DE C4 E BF ASSOCIADOS A CLASSE FUNCIONAL DA AR

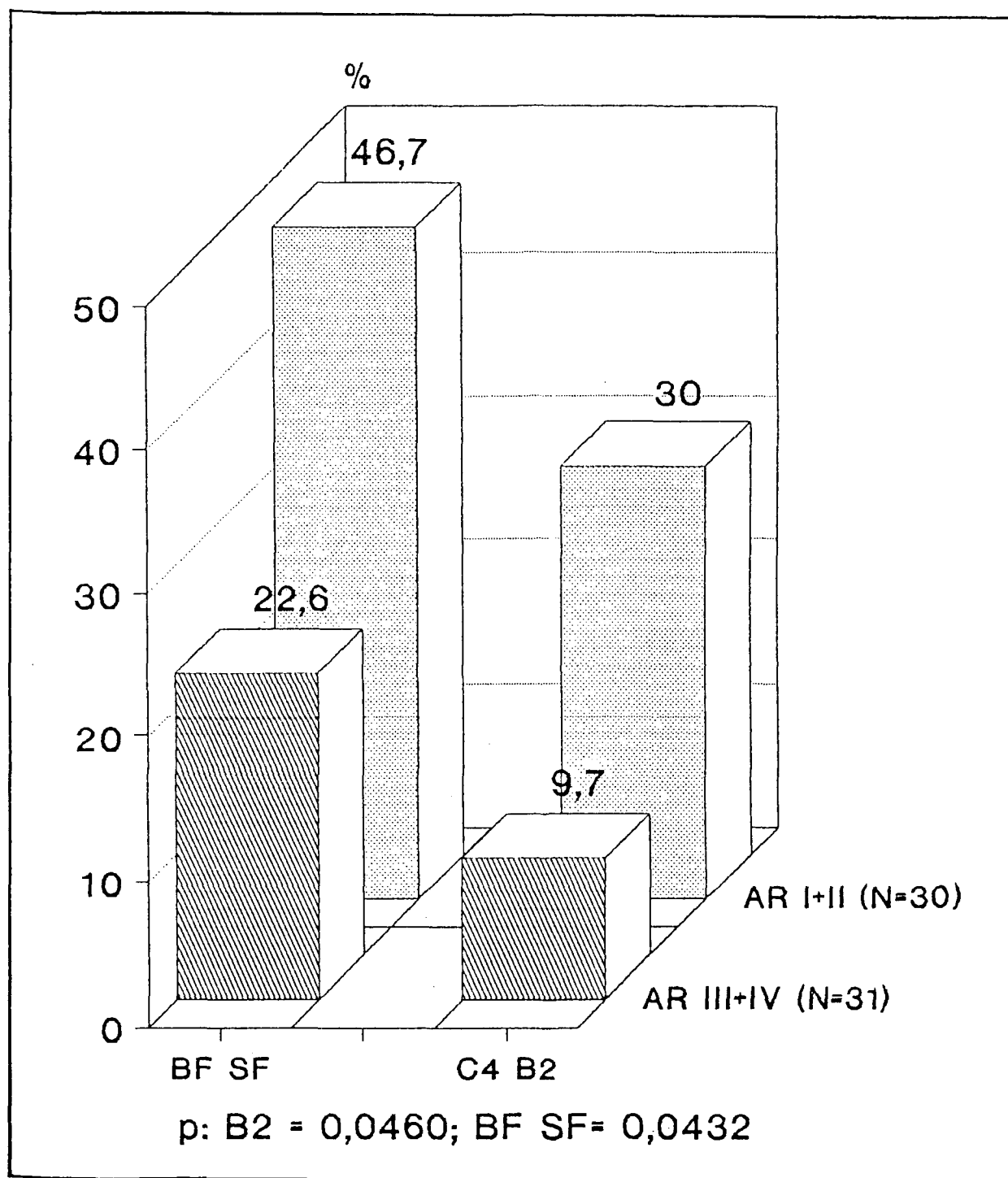


GRÁFICO.3. DEFICIÊNCIA DE C4A EM PACIENTES COM AR APRESENTANDO COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR E DEFORMIDADES

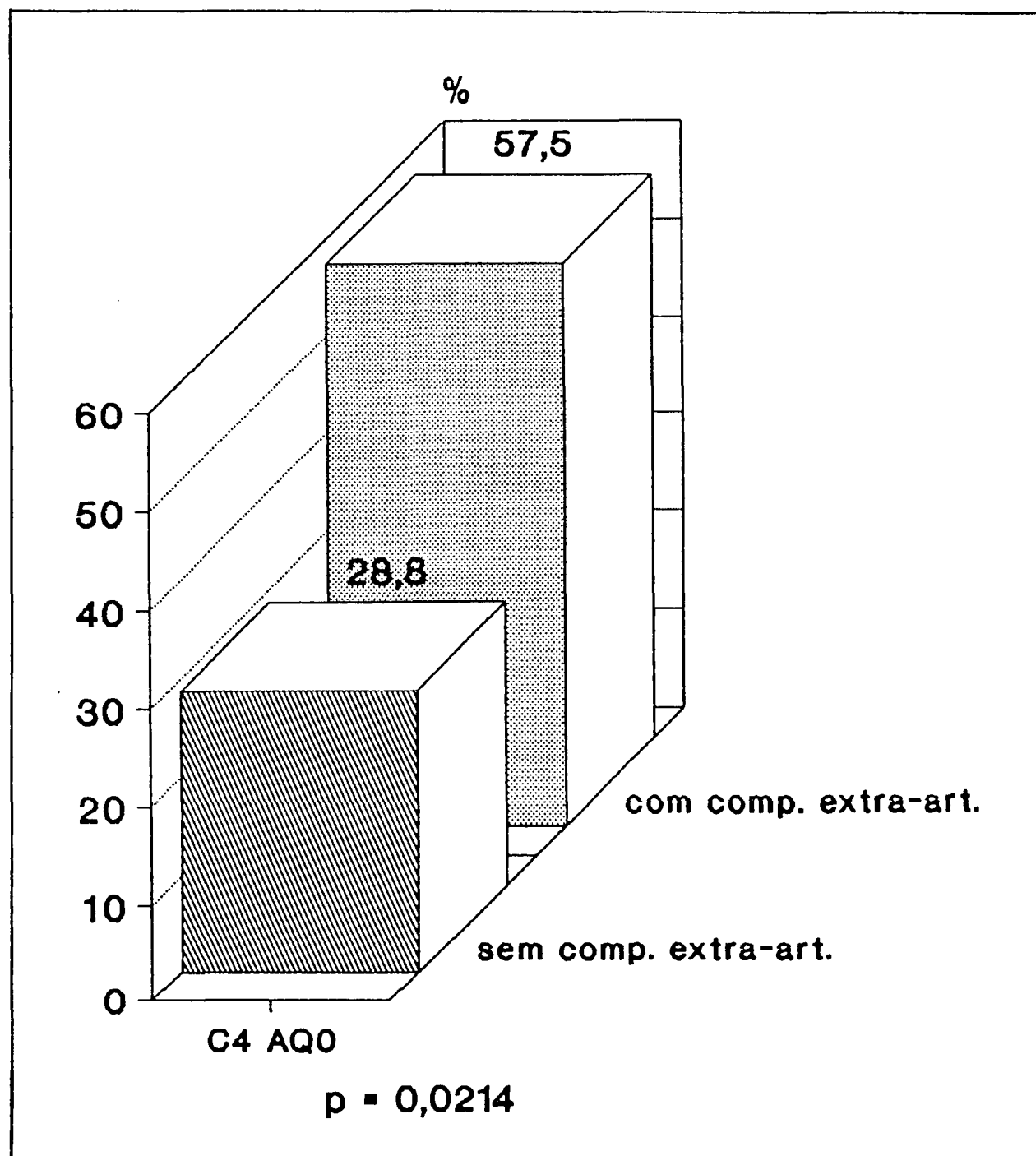




GRÁFICO.4. DEFICIÊNCIA DE C4A E DE C4B EM PACIENTES COM HISTÓRIA FAMILIAR DE AR

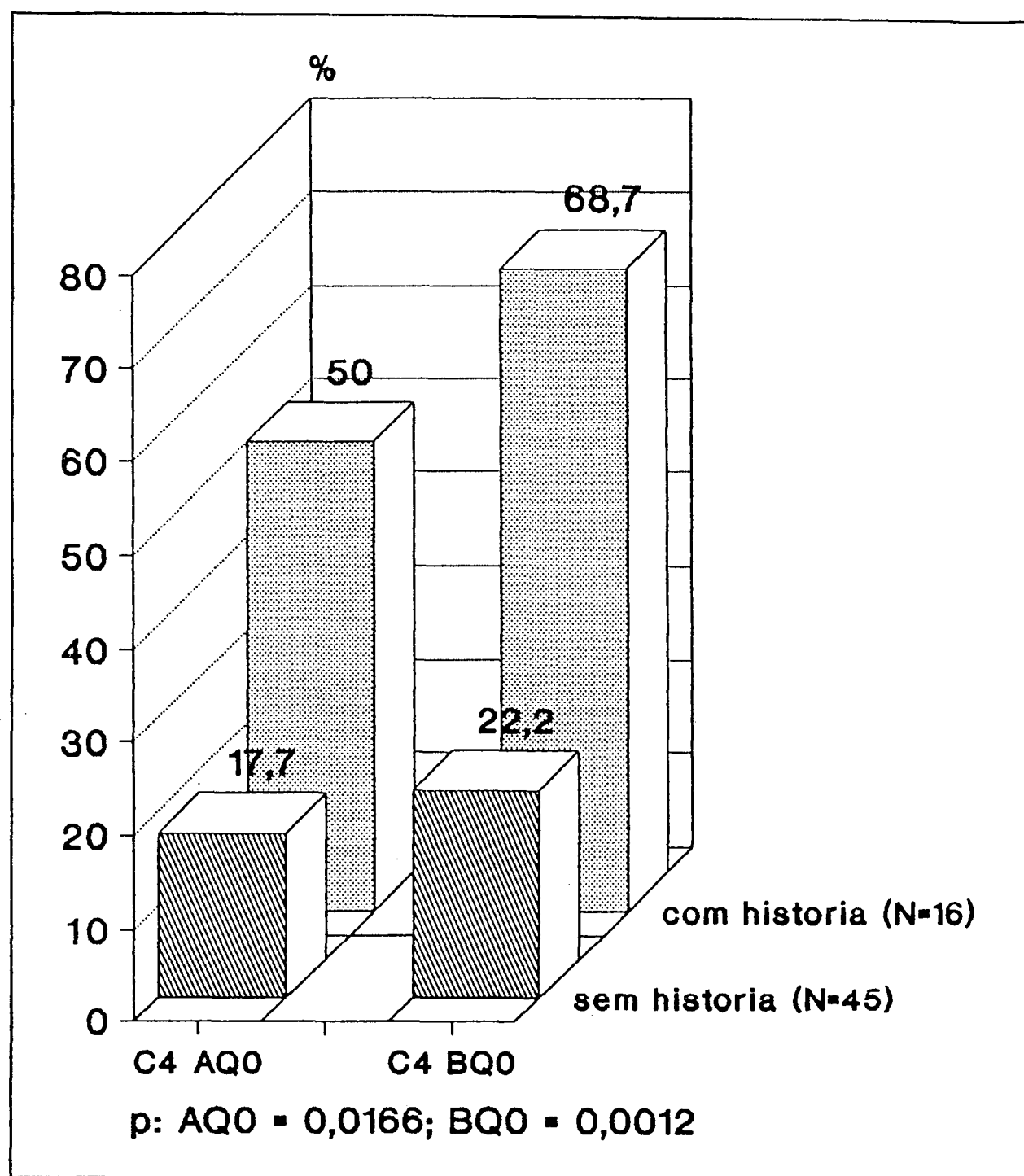
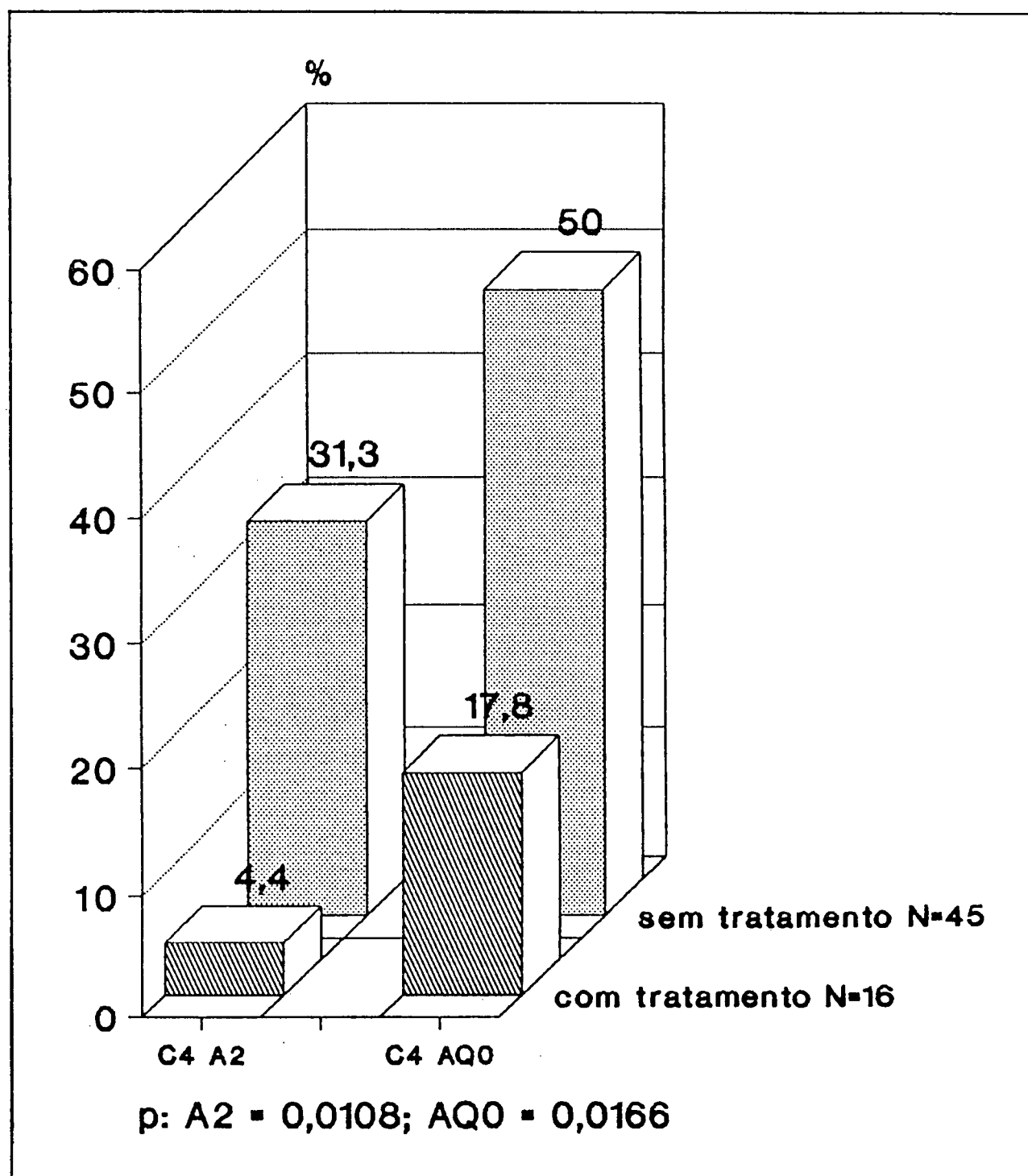


GRÁFICO.5. ALELOS DE C4 ASSOCIADOS A AR, QUANTO AO USO DE DROGAS DE AÇÃO LENTA



## 5. DISCUSSÃO

A Artrite Reumatóide soro-positiva é uma doença que cursa com o envolvimento de elementos multifatoriais na sua etiopatologia, apresentando uma prevalência maior (2 a 3 vezes) no sexo feminino, fenômeno este observado neste estudo, onde participaram da amostra 50 mulheres (81,9%) e 11 homens (18,1%) portadores de AR. Os estudos de associação entre marcadores genéticos e doenças com aspectos etiológicos multifatoriais, freqüentemente são complicados por problemas quanto ao diagnóstico e pela heterogeneidade entre os pacientes. Numa doença como a AR onde existe o componente etiológico de caráter genético, esperar-se-ia o envolvimento de marcadores genéticos com maior probabilidade nos pacientes com história familiar de AR, do que nos pacientes sem estes antecedentes.

Os resultados quanto ao estudo da associação dos alótipos de BF neste trabalho não demonstraram dados significativos relacionados com a presença de história familiar e da maioria dos parâmetros clínicos avaliados. Observamos, no entanto, uma diminuição de BF\*SF nos pacientes com AR classe funcional III e IV (7/31 pacientes; 22,58%), quando comparados com os pacientes com AR classe funcional I e II (14/31 pacientes; 46,66%), determinando um resultado estatisticamente significativo ( $p=0,0432$ ) e um Risco Relativo (RR) de 0,3.

A diminuição do alótipo BF SF em AR foi também observada por DAHLQUIST et al., (1985) e DYER et al., (1984). DAHLQUIST et al., (1985) demonstraram um aumento do alótipo BF\*S e uma diminuição de BF\*SF em pacientes masculinos com história familiar de poliartrite. Este achado é corroborado pelos resultados obtidos por DYER et al., (1984); que por sua vez observaram uma diminuição de BF\*SF e um aumento de BF\*S num grupo de 353 pacientes com AR; estes últimos pacientes no entanto, não foram subdivididos pela presença de história familiar, sexo ou outras variáveis clínicas; o que não nos permite discernir se esta associação está ligada especificamente a algum parâmetro clínico ou com a doença em si.

A associação de alótipos de BF com história familiar da AR é corroborada pelos achados de FIELDER et al., (1989); que observaram uma diminuição de BF\*S em familiares de pacientes com AR. Outros estudos demonstraram resultados diferentes

relacionados ao polimorfismo genético de BF e a AR (KAY et al., 1983; RAUM et al., 1984; ARNAIZ-VILLENA et al., 1984). PUTTICK et al., (1990) não observaram nenhum resultado significativo comparando-se pacientes com controles, o que está em concordância com a maioria dos achados do nosso estudo, exceto quanto a diminuição de BF SF nos pacientes com AR classe funcional III e IV.

Um fato importante neste caso a ser analisado é a caracterização étnica dos grupos estudados, uma vez que a distribuição dos alelos de BF pode ser variável em diferentes populações, podendo assim o componente genético relacionado ao polimorfismo de BF e AR se expressar de formas diferentes em diversas populações.

A participação do BF na suscetibilidade genética da AR e de outras doenças auto-imunes, é reforçada pelo estudo de WARLOW et al., (1988); que demonstraram uma associação entre o alótipo BF SF e a presença de auto-anticorpos em pacientes com AR. Este achado foi semelhante ao encontrado já previamente pelo mesmo autor (WARLOW et al., 1985); que observaram uma associação dos níveis de auto-anticorpos com o fenótipo BF SF. Salientamos que em nosso estudo, todos pacientes eram fator reumatóide positivo, sendo que o alótipo BF SF estava presente de modo equivalente nos pacientes e nos controles (21/61; 34,4% nos pacientes X 23/61; 37,7% nos controles). Entretanto a associação negativa do alótipo BF SF com as classes funcionais III e IV fica evidente no presente estudo, sugerindo um papel deste alótipo na evolução clínica da AR, e na determinação de um caráter de proteção ao desenvolvimento de formas clínicas mais incapacitantes da doença.

A demonstração da associação de alelos de BF com AR sugere que outros genes dentro do MHC, além do HLA-DR4, como é o caso da classe III, que envolvem os componentes C2, BF e C4 do complemento; podem influenciar na suscetibilidade genética da AR.

Com relação ao polimorfismo de C3 em AR, no nosso estudo as frequências alótípicas observadas de C3 (F, SF, S) foram similares nos pacientes e nos controles normais. Também nas demais comparações entre os pacientes, onde avaliou-se a classe funcional, história familiar, comprometimento extra-articular

e uso de drogas de ação lenta não foi demonstrado nenhum resultado estatisticamente significativo.

Estudos europeus avaliando o polimorfismo de C3 em AR têm encontrado resultados conflitantes. FARHUD et al., (1972) (estudando 200 pacientes reumáticos germânicos), sugeriram que o fenótipo C3 F estava associado com a AR, o que também foi verificado por BRÖNNESTAN et al., (1973) estudando a população sueca; porém estudos posteriores não confirmaram esta associação em outros grupos populacionais europeus (DAHLQUIST et al., 1985; DAHLQUIST, 1986; THOMSON et al., 1986a; LANCHBURY et al., 1987).

THOMSON et al., (1986b) sugeriram que havia pouca evidência da participação de alelos de C3 na suscetibilidade da AR, ao passo que genes ligados as cadeias pesadas de imunoglobulinas poderiam ter um papel mais relevante na doença, porém isto só foi observado em associação com antígenos HLA.

Merece citação, no entanto, o achado de PUTTICK et al., (1990) sugerindo que o alelo C3\*F seria mais provavelmente um marcador para artrites soro-negativas suaves, do que para a AR soro-positiva definida. No nosso estudo não foi verificada nenhuma associação, quando comparou-se os pacientes classe funcional I e II com os pacientes classe funcional III e IV; cabe salientar que todos os pacientes aqui estudados tinham o diagnóstico bem definido de AR.

As discrepâncias entre os vários estudos envolvendo C3 e BF podem também em parte ser explicadas pelas variáveis clínicas, devido a heterogeneidade dos pacientes estudados, incluindo pacientes com AR provável até quadros artríticos a serem definidos. Além de que fatores raciais, desigualdades na seleção dos pacientes e dos controles, podem ter acarretado vícios nos resultados dos estudos já descritos.

Estes resultados variados sugerem entretanto, que a participação de BF e C3 na AR, deva ser melhor definida, necessitando para tanto, a análise de um número significativo de pacientes bem selecionados quanto aos parâmetros clínicos, imunológicos e raciais, visando o esclarecimento real da participação destes componentes do complemento na suscetibilidade da AR.

A seguir passamos a considerar os resultados do polimorfismo de C4A e de C4B. Os dois alótipos de C4 mais comumente

observados em diferentes grupos étnicos são C4 A3 e C4 B1 (MAUFF et al., 1990), o que está de acordo com os achados da população do nosso estudo (A3=57,5% nos pacientes e 66,7% nos controles; B1=64,2% nos pacientes e 70,8% nos controles). As deficiências heterozigóticas de C4A e C4B são relativamente comuns em diferentes populações estudadas. A prevalência da deficiência homozigótica de C4A e de C4B é aproximadamente de 1% na população brasileira (de MESSIAS et al., 1991b).

A associação inicial entre alótipos de C4 e AR foi observada por O'NEIL et al., (1982) que estudaram pacientes com AR definida ou clássica, demonstrando a presença do alótipo raro C4 B2.9 em 11 de 119 pacientes (9,2%) e em 2 de 176 (1,1%) indivíduos normais (risco relativo de 8,5). Este achado foi confirmado também, por outros autores (McCLUSKEY et al., 1983; DAWKINS et al., 1983; KAY et al., 1983; AWDEH et al., 1983; RAUM et al., 1984; e FIELDER et al., 1989).

De acordo com a VI Conferência e Workshop do Complemento, realizada em Mainz, Alemanha, em 1989 (MAUFF et al., 1990), o alótipo C4 B2.9 é classificado atualmente como C4 B3. No entanto, a associação C4 B3 e AR, não foi encontrada em outras populações estudadas por WARLOW et al., (1988) e SANDERS et al., (1988).

No nosso estudo não foi observado a presença do alótipo C4 B3 de modo significativo nos pacientes, uma vez que a frequência nos pacientes com AR e nos controles foi a mesma (3,3%). Este resultado é uma evidência contra a participação deste alelo, como fator de risco para a AR na nossa população.

Observamos uma diminuição do alótipo C4 B2 no grupo total de pacientes quando comparados com os controles normais (18,1% nos pacientes X 34,4% nos controles;  $p=0,0396$  e  $RR=0,4$ ). A diminuição significativa de C4 B2 observada nos pacientes é interessante, e sugere que este alelo pode ter um caráter de proteção ao desenvolvimento da doença. Esta hipótese é reforçada pelo resultado obtido da comparação entre os pacientes quanto a classe funcional da AR, onde observou-se a diminuição do alelo C4\*B2 nos pacientes classe funcional III e IV (3/31; 9,7%), em relação aos pacientes classe funcional I e II (9/30; 30%;  $p=0,0460$  e  $RR=0,24$ ). Isto corrobora a hipótese do papel protetor do alelo C4\*B2 na AR, especialmente contra as formas mais graves da doença. Este achado não se encontra descrito na

literatura, tornando-se interessante a realização de estudos posteriores, com o objetivo de confirmar esta associação em nossa população, através duma amostragem mais expressiva de pacientes artríticos.

Quanto a presença de alelos nulos de C4B (C4\*BQ0), dos 61 pacientes com AR soro-positivos por nós estudados, encontramos a sua presença em 34,4% dos pacientes e em apenas 13,1% dos controles ( $p=0,0049$ ; risco relativo de 3,5); o que sugere que indivíduos portadores deste alelo apresentam um maior risco de desenvolverem a doença no nosso meio.

Alelos nulos de C4B com frequência aumentada em AR foram também descritos por PUTTICK et al., (1990a) assim como em pacientes artríticos com síndrome de Felty (AR com esplenomegalia) observados por THOMSON et al., (1988) e CLARKSON et al. (1990). Outra observação interessante foi feita por CLARKSON et al., (1992) associando a presença de alelos nulos de C4B como um marcador de toxicidade para o ouro ou a D-penicilamina, no tratamento da AR. O que também já havia sido relatado por PARTANEN et al., (1987) que demonstraram a associação da presença de C4\*BQ0 com pneumonite induzida por ouro em pacientes com AR.

O aumento de C4\*BQ0 em pequenos subgrupos de AR com manifestações extra-articulares severas pode ser de alguma importância. Como o C4 tem um importante papel na prevenção da precipitação e na eliminação de imuno-complexos (NAAMA et al., 1985) e, como os imuno-complexos circulantes podem contribuir na patogênese dos aspectos extra-articulares da doença, a presença de alelos nulos de C4B pode ter um papel intensificador na doença (SANDERS et al., 1988). Além disto, a presença de alelos nulos de C4B pode identificar indivíduos dentro de uma população reumatóide, que são de risco para o desenvolvimento de complicações sistêmicas específicas (THOMSON et al., 1988). Como o C4B apresenta uma atividade hemolítica funcional significativamente maior do que o C4A, estados de deficiência de C4B implicam em consequências biológicas importantes, (ROWE et al., 1989).

Destacamos que em nosso estudo não observamos associação da presença de C4\*BQ0 com os quadros artríticos mais severos, nem com a presença de manifestações extra-articulares; estando estes resultados concoradantes com

àqueles observados por PUTTICK et al., (1990a). Por outro lado, observamos o aumento significativo de C4B\*Q0 nos pacientes com história familiar de AR (11/16; 68,8%), quando comparados com os pacientes sem história familiar de AR (10/45; 22,2%;  $p=0,0012$  e  $RR=7,7$ ). Esta associação contribui para a hipótese da participação do fator genético na etiogênese da AR, indicando uma maior predisposição dos indivíduos com familiares apresentando AR, de desenvolver a doença quando estes apresentarem o alelo C4B\*Q0.

Resultados diferentes, entretanto, tem sido observados em relação ao polimorfismo de C4 e AR, dependendo da população em estudo. SANDERS et al., (1988) estudando 54 pacientes ingleses, de Manchester, observaram uma diminuição de C4\*BQ0 e um aumento de C4\*B2 em pacientes com AR HLA-DR4 positivos, comparando com controles DR4 positivos. Resultado este, completamente oposto ao encontrado em nosso estudo. ARNAIZ-VILLENA et al., (1984) encontraram uma associação negativa significativa para C4\*A6 e C4\*BQ0 em pacientes com AR juvenil, demonstrando novamente a diminuição de C4B\*Q0 em pacientes reumáticos. Um fato interessante neste trabalho é o relato da associação de ARJ com alelos de C4A, o que é pouco descrito na literatura.

As diferenças quanto a associação de alelos deficientes de C4 e AR, provavelmente são devidas ao fato que os alelos nulos de C4 ultrapassam a barreira racial, provocando variáveis clínico-raciais significativas, que podem interferir na análise das diferentes comparações entre pacientes e controles (MOULDS et al., 1991).

Com relação aos alelos de C4A, observamos no nosso estudo uma associação positiva de importância, do alelo nulo C4A\*Q0 nos pacientes com história familiar de AR ( $p=0,0166$  e  $RR=4,6$ ); e nos pacientes com comprometimento extra-articular/deformidades ( $p=0,0214$  e  $RR=3,4$ ); este resultado é corroborado em parte pelos achados de TAKEUCHI et al., (1989); que observaram em pacientes japoneses uma frequência elevada de C4A\*Q0 (32,1%) e de C4\*B5 (35,9%), quando comparados com os controles ( $RR$  de 13,5). A associação do alelo nulo de C4A (C4A\*Q0) no nosso estudo, sugere que a deficiência de C4A pode determinar um caráter importante de predisposição familiar da doença, assim



como, uma predisposição maior ao desenvolvimento de comprometimento extra-articular e deformidades.

O aumento do alelo nulo, C4A\*Q0 foi observado também no grupo de pacientes que não utilizou drogas de ação lenta no seu tratamento ( $p=0,016$  e  $RR=0,24$ ), enquanto que uma diminuição do alelo C4\*A2 foi observada nos pacientes que utilizaram drogas de ação lenta ( $p=0,0108$  e  $RR=0,1$ ). A presença do alelo C4A\*Q0 em AR sugere a princípio, uma melhor resposta a terapêutica convencional no tratamento da doença, em um determinado sub-grupo de pacientes. Isto é evidenciado a partir da análise dos 16 pacientes que não utilizaram drogas de ação lenta, onde apenas 4 (25%) tinham história familiar de AR, 10 (62,5%) eram classe funcional III e IV, e 7 (43,7%) tinham comprometimento extra-articular/deformidades. A associação negativa do alelo C4\*A2 quando presente em AR, confere um papel protetor, sugerindo também uma melhor resposta a terapêutica convencional no tratamento da doença.

Observamos também a presença do alelo raro C4\*A6 em 3 pacientes, que apresentavam duplicação do locus C4A, sendo que estes 3 pacientes não apresentavam história familiar de AR, estavam classificados como classe funcional I e II, e dois utilizaram drogas de ação lenta no seu tratamento. Resta esclarecer em estudos posteriores o papel deste alelo na AR.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que, também na nossa população existe a participação de genes do sistema MHC no desenvolvimento da AR, além do antígeno HLA-DR4. Como não há dados com relação a tipagem HLA dos pacientes e controles estudados, podemos somente inferir que a associação dos diferentes alelos da classe III do MHC, especialmente de C4, possa estar ligada a outros antígenos dentro do MHC.

O efeito dos alelos nulos, principalmente de C4A\*Q0 e C4\*BQ0 na AR, em predispor determinadas manifestações clínicas, ou a sua simples associação com a AR tem sido verificada com relativa frequência na literatura, como relatamos anteriormente. É importante comentar a associação dos alelos nulos de C4A e C4B nos pacientes que apresentavam história familiar da doença, já que a associação foi positiva tanto para C4A\*Q0 quanto para C4B\*Q0, o que sugere a participação do Complemento na suscetibilidade familiar da AR. É conhecido que a deficiência de

C4A está associada a doenças auto-imunes (HOWARD et al., 1986; BRIGGS et al., 1991) e que a deficiência de C4B está associada a doenças infecciosas (HÄUPTMANN, 1974; de MESSIAS et al., 1991; ROWE et al., 1989; BISHOF et al., 1990); deste modo a deficiência de C4A na AR corrobora o conceito da participação auto-imune na sua etiopatogenia, enquanto que a deficiência de C4B pode sugerir uma participação infecciosa na etiopatogenia desta doença, o que reforça a hipótese do caráter infeccioso na etiologia da AR. Além disto, considerando-se o importante papel do C4 na solubilização e na inibição da precipitação de imuno-complexos, podemos concluir que a deficiência de C4B na AR pode estar associada a deposição de imuno-complexos, com consequente lesão tecidual, e que indivíduos portadores deste alelo na nossa população apresentam uma predisposição maior ao desenvolvimento da doença.

Estes achados em comum com outros dados da literatura, assim como os divergentes envolvendo o polimorfismo de BF, C3 e de C4; merecem estudos posteriores, inclusive incluindo tipagem HLA, visando esclarecer a participação real destes componentes do Complemento no mecanismo patogênético da AR.

## 6. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos no presente estudo permitiu chegar-se às seguintes conclusões:

- Uma associação negativa envolvendo o alótipo BF SF foi observada nos pacientes com AR classe funcional III e IV, quando comparados com os pacientes classe funcional I e II; sugerindo um papel protetor deste alelo, no desenvolvimento de formas clínicas mais incapacitantes da doença.
- Como nenhuma associação estatisticamente significativa foi verificada com os alelos de C3, conclui-se que este componente não tenha um papel relevante na suscetibilidade da AR.
- A diminuição do alelo C4\*A2 nos pacientes que usaram drogas de ação lenta, quando comparados com os pacientes que não usaram estas drogas; sugere um papel protetor deste alelo determinando talvez, uma melhor resposta à terapêutica convencional no tratamento da doença.
- A associação positiva do alelo nulo C4A\*Q0 verificada no grupo de pacientes com história familiar de AR, nos pacientes com comprometimento extra-articular/deformidades, e nos pacientes que não usaram drogas de ação lenta, quando comparados com o grupo de pacientes que não apresentavam a característica em análise; sugere que a deficiência de C4A pode determinar um caráter importante de predisposição familiar da doença, assim como, uma predisposição maior ao desenvolvimento de comprometimento extra-articular/deformidades; além de uma possível melhor resposta à terapêutica convencional no tratamento da doença, em determinado sub-grupo de pacientes.
- A diminuição significativa de C4\*B2 observada no grupo total de pacientes, em relação ao grupo controle, bem como nos pacientes classe funcional III e IV quando comparados com os de classe funcional I e II; sugere um fator protetor deste alelo no desenvolvimento da doença e de formas clínicas mais incapacitantes.
- A associação positiva do alelo nulo C4\*BQ0 nos pacientes (RR=3,5), quando comparados com os controles normais, e intensificada nos pacientes com história familiar de AR (RR=7,7); sugere que a deficiência de C4B tem um caráter importante de predisposição familiar da doença, e que indivíduos portadores deste alelo apresentam um maior risco de desenvolverem a doença em nosso meio.
- Os resultados obtidos indicam um papel imunogenético do Complemento na AR, tanto nas manifestações clínicas quanto na fisiopatogenia da doença.

## 7. ANEXOS

## ANEXO.1. PROTOCOLO PARA A SELEÇÃO DOS PACIENTES

# PROTOCOLO PARA A SELEÇÃO DOS PACIENTES

## DISCIPLINA DE REUMATOLOGIA

PROJETO: TRABALHO: DETERMINAÇÃO DE C3, FATOR B E C4 EM ARTRITE REUMATÓIDE.

DATA:

Nº FICHA:      Nº COLETA:      Nº REGISTRO:      PROCED:

### IDENTIFICAÇÃO INDIVIDUAL

NOME:

ENDEREÇO:

SEXO:              MASC. ( )              FEM. ( )

GRUPO ÉTNICO:

- BRANCO EUROPEU ( )
- BRANCO BRASILEIRO ( )
- MULATO CLARO ( )
- MULATO MÉDIO ( )
- MULATO ESCURO ( )
- NEGRO ( )
- ÍNDIO ( )
- ÍNDIO + BRANCO ( )

ORIGEM ÉTNICA DOS PAIS:

LOCAL DE NASCIMENTO DOS PAIS:

GRUPO SANGÜÍNEO:

NASCIMENTO (dia/ mês/ ano):              LOCAL:

LOCAL DE RESIDÊNCIA:              HÁ QUANTO TEMPO:

RESIDÊNCIA ANTERIOR:

PROFISSÃO:              INSTRUÇÃO:

CONFIRMAÇÃO DIAGNÓSTICA:              IDADE AO DIAG:

FORMA CLÍNICA: LEVE ( )      MODERADA ( )      SEVERA ( )

TEMPO DE TRATAMENTO:

TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA HÁ

OUTRA PESSOA ACOMETIDA NA FAMÍLIA:

\*\*\*OBSERVAÇÕES: Detalhes de manifestações extra-articulares

ANEXO.2. DADOS REFERENTES AOS PACIENTES (SEXO, IDADE, REGISTRO, NATURALIDADE, PROCEDÊNCIA, ETNIA, CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA E PROFISSÃO)

Record#	SEXO	IDADE	REGISTRO	NATURALIDA	PROCEDENCI	ETNIA	CSOCECONOM	PROFISSAO
1	FEM	47	623109	RIO BRANCO DO SUL (PR)	RIO BRANCO DO SUL (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
2	FEM	30	681572	RIO NEGRO (PR)	SAO BENTO DO SUL (SC)	BE	MEDIA	AUX. ESCRIT.
3	FEM	53	621375	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	MM	BAIXA	DO LAR
4	FEM	48	669398	PARANAGUA (PR)	PARANAGUA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
5	MAS	35	602343	MALLET (PR)	CURITIBA (PR)	BE	BAIXA	PINTOR
6	FEM	53	677252	CATUIRA (SC)	NOVA PRATA DO IGUAU (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
7	FEM	59	329289	MANDIRITUBA (PR)	MANDIRITUBA (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
8	FEM	68	456682	GRAO MOCOCA (MG)	PIRAQUARA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
9	FEM	48	616854	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
10	FEM	32	697414	DIAMANTINA(MG)	CAMPO LARGO PR	MM	BAIXA	DIARISTA
11	FEM	52	620295	MANDIRITUBA (PR)	CURITIBA (PR)	MC	BAIXA	DO LAR
12	MAS	45	238261	IBIQUARA (BA)	JESUITAS (PR)	N	BAIXA	ENSACADOR
13	FEM	43	681741	SAO MATEUS DO SUL (PR)	CURITIBA (PR)	MC	BAIXA	DO LAR
14	FEM	52	658827	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
15	FEM	60	247633	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BB	MEDIA	DO LAR
16	MAS	42	888233	PASSO FUNDO (RS)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	LAVRADOR
17	MAS	58	497149	SERRA TALHADA (PE)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	ZELADOR
18	FEM	34	899991	JOACABA (SC)	CERRO AZUL (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
19	FEM	37	380306	BARRA VELHA (SC)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
20	FEM	49	237004	CARLOPOLIS (PR)	COLOMBO (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
21	FEM	62	473789	CANDIDO MOTA (SP)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
22	FEM	43	101662	TAIO (SC)	PIRAQUARA (SC)	BB	MEDIA	DO LAR
23	FEM	20	294544	JAGUARIAIVA (PR)	CURITIBA (PR)	MM	BAIXA	DO LAR
24	FEM	40	685523	ITAIOPOLIS (SC)	ITAIOPOLIS (SC)	BB	MEDIA	DO LAR
25	FEM	60	247632	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BB	MEDIA	DO LAR
26	FEM	66	234179	CASTRO (PR)	CASTRO (PR)	BE	MEDIA	COSTUREIRA
27	FEM	65	432886	IGUAPE (SP)	CURITIBA (PR)	N	BAIXA	DO LAR
28	FEM	65	905657	PRUDENTOPOLIS (PR)	PRUDENTOPOLIS (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
29	FEM	59	91406	SOLEDADE (RS)	ABELARDO LUZ (SC)	BB	BAIXA	DO LAR
30	FEM	43	231094	MAFRA (SC)	SAO BENTO DO SUL (SC)	BB	MEDIA	DO LAR
31	FEM	43	495684	GUARAPUAVA (PR)	PINHAIS (PR)	BB	BAIXA	COPEIRA
32	MAS	32	898882	UNIAO DA VITORIA (PR)	CURITIBA (PR)	BE	MEDIA	EMPRETEIRO
33	FEM	56	23075	CURITIBANOS (SC)	AGUDOS DO SUL (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
34	FEM	68	456682	MONTES CLAROS (MG)	PINHAIS (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
35	MAS	36	426379	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	MOTORISTA
36	FEM	55	643997	ITAPORANGA (SP)	GUARAUQUECABA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
37	FEM	40	896295	PORTO ALEGRE (RS)	CURITIBA (PR)	BE	MEDIA	DO LAR
38	FEM	32	124445	OLAVO BILAC (PR)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	COSTUREIRA
39	FEM	30	603389	PRIMEIRO DE MAIO (PR)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
40	FEM	40	431738	CAMPOS NOVOS (SC)	CURITIBA (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
41	MAS	32	903649	S. JOAO DO TRIUNFO (PR)	S. JOAO DO TRIUNFO (PR)	MC	BAIXA	MOTORISTA
42	FEM	74	604367	TRES BARRAS (SC)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
43	FEM	75	605233	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BE	BAIXA	DO LAR
44	MAS	53	649568	AGUDOS DO SUL (PR)	SAO BENTO DO SUL (SC)	BB	BAIXA	APOSENTADO
45	FEM	30	681571	RIO NEGRINHO (SC)	RIO NEGRO (PR)	BE	MEDIA	SECRETARIA
46	FEM	54	665836	SAO MATEUS DO SUL (PR)	SAO MATEUS DO SUL (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
47	FEM	49	242733	MAFRA (SC)	MAFRA (SC)	BB	BAIXA	DO LAR
48	MAS	27	225224	ARAUCARIA (PR)	ARAUCARIA (PR)	BB	BAIXA	LIXADOR
49	FEM	64	495847	PONTA GROSSA (PR)	CURITIBA (PR)	BE	MEDIA	DO LAR
50	MAS	42	288720	JABOTI (PR)	IBAITI (PR)	BB	BAIXA	TELEGONISTA
51	FEM	25	875929	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
52	FEM	55	621374	WENCESLAU BRAZ (PR)	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	MM	BAIXA	DO LAR
53	FEM	40	872348	CURITIBA (PR)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
54	FEM	28	260906	CASCAVEL (PR)	CURITIBA (PR)	MC	BAIXA	DO LAR
55	FEM	48	11437	SAO BENTO DO SUL (SC)	ALMIRANTE TAMANDARE (PR)	MC	BAIXA	DOMESTICA
56	MAS	58	382026	PITANGA (PR)	PIRAQUARA (PR)	BB	BAIXA	CARPINTEIRO
57	FEM	40	653966	PORANGABA (SP)	CURITIBA (PR)	BB	BAIXA	PASSADEIRA
58	FEM	25	206041	GUAPIRAMA (PR)	GUAPIRAMA (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
59	FEM	64	495671	CORUPA (SC)	CACADOR (SC)	BB	BAIXA	DO LAR
60	FEM	33	227339	SAO CARLOS DO IVAI (PR)	DIAMANTE DO OESTE (PR)	BB	BAIXA	DO LAR
61	FEM	71	477403	SAO MATEUS DO SUL (PR)	CURITIBA (PR)	BB	MEDIA	COMERCIANTE



ANEXO.3. DADOS REFERENTES AOS PACIENTES (IDADE, SEXO, IDADE AO DIAGNÓSTICO, DURAÇÃO DA DOENÇA, ESCOLARIDADE, ANTECEDENTES FAMILIARES, FORMA CLÍNICA E TRATAMENTO)

Record#	IDADE	SEXO	IDADEDIAGN	DURDOENCA	ESCOLARIDA	ANTECFAMIL	FORMACLINI	TRATAMENTO
1	47	FEM	38	9	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH
2	30	FEM	23	7	SEG. GRAU	NAO	MODERADA	AINH+AURANOFIN 4M + CLOROQUINA 1A
3	53	FEM	50	3	NENHUMA	NAO	MODERADA	CORTICOIDE + AINH
4	48	FEM	38	10	PRIM. GRAU	SIM	SEVERA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
5	35	MAS	23	12	PRIM. GRAU	NAO	SEVERA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
6	53	FEM	20	23	PRIM. GRAU	SIM	SEVERA	CORTICOIDE+AINH
7	59	FEM	55	4	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	AINH+CLOROQUINA
8	68	FEM	63	5	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA(reacao)
9	48	FEM	40	8	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
10	32	FEM	25	7	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
11	52	FEM	44	4	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
12	45	MAS	41	4	NENHUMA	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
13	43	FEM	26	16	PRIM. GRAU	NAO	SEVERA	CORTICOIDE+AINH
14	52	FEM	36	16	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
15	60	FEM	57	3	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
16	42	MAS	41	2	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
17	58	MAS	46	12	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+(AURANOFIN)+CLOROQU
18	34	FEM	31	4	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+METHOTRE
19	37	FEM	32	6	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
20	49	FEM	46	3	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
21	62	FEM	58	5	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
22	43	FEM	20	23	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE+CLOROQ
23	20	FEM	18	2	PRIM. GRAU	SIM	LEVE	CORTICOIDE+AINH+AAS
24	40	FEM	38	2	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
25	60	FEM	57	4	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
26	66	FEM	65	1	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	AINH
27	65	FEM	45	20	NENHUMA	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
28	65	FEM	55	10	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
29	59	FEM	52	7	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
30	43	FEM	30	13	PRIM. GRAU	SIM	LEVE	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
31	43	FEM	39	5	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
32	32	MAS	30	2	SEG. GRAU	SIM	LEVE	AINH+CLOROQUINA
33	56	FEM	26	30	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
34	68	FEM	55	12	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
35	36	MAS	30	5	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
36	55	FEM	54	2	NENHUMA	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH
37	40	FEM	35	5	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
38	32	FEM	20	12	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
39	30	FEM	26	4	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH
40	40	FEM	28	12	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
41	32	MAS	31	1	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
42	74	FEM	68	6	NENHUMA	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
43	75	FEM	62	13	PRIM. GRAU	NAO	SEVERA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
44	53	MAS	41	12	PRIM. GRAU	SIM	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
45	30	FEM	23	8	SEG. GRAU	SIM	LEVE	AINH+CLOROQUINA+AURANOFIN
46	54	FEM	50	4	PRIM. GRAU	SIM	LEVE	AINH+CLOROQUINA
47	49	FEM	42	7	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	AINH+CLOROQUINA
48	27	MAS	25	3	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
49	64	FEM	56	8	SEG. GRAU	SIM	LEVE	CORTICOIDE+AINH
50	42	MAS	38	4	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	AINH+CLOROQUINA
51	25	FEM	19	6	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
52	55	FEM	48	7	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
53	40	FEM	31	9	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
54	28	FEM	26	2	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	AINH+CLOROQUINA
55	48	FEM	31	17	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH
56	58	MAS	48	10	PRIM. GRAU	NAO	SEVERA	CORTICOIDE+AINH
57	40	FEM	25	15	PRIM. GRAU	SIM	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
58	25	FEM	19	6	SEG. GRAU	SIM	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
59	64	FEM	54	10	PRIM. GRAU	NAO	MODERADA	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
60	33	FEM	27	6	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
61	71	FEM	62	9	PRIM. GRAU	NAO	LEVE	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA

ANEXO.4. DADOS REFERENTES AOS PACIENTES (IDADE, COMPROMETIMENTO EXTRA-ARTICULAR/DEFORMIDADES, E TRATAMENTO)

Record# SEXO IDADE IDADEIAGN DURDOENCA CEXTRAARTIC

TRATAMENTO

1	FEM	47	38	9 NAO	CORTICOIDE+AINH
2	FEM	30	23	7 NAO	AINH+AURANOFIN 4M + CLOROQUINA 1A
3	FEM	53	50	3 NAO	CORTICOIDE + AINH
4	FEM	48	38	10 NAO	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
5	MAS	35	23	12 NAO	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
6	FEM	53	20	23 DPOC+INSUFICIENCIA AORTICA	CORTICOIDE+AINH
7	FEM	59	55	4 NAO	AINH+CLOROQUINA
8	FEM	68	63	5 NAO / HAS	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA(reacao)
9	FEM	48	40	8 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
10	FEM	32	25	7 NAO	CORTICOIDE+AINH
11	FEM	52	44	4 NAO	CORTICOIDE+AINH
12	MAS	45	41	4 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
13	FEM	43	26	16 VASCULITE REUMATOIDE+FIBROSE MIOCARDICA	CORTICOIDE+AINH
14	FEM	52	36	16 NAO / DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH
15	FEM	60	57	3 NAO	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
16	MAS	42	41	2 NAO	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
17	MAS	58	46	12 NAO	CORTICOIDE+AINH+ (AURANOFIN)+CLOROQU
18	FEM	34	31	4 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+METHOTRE
19	FEM	37	32	6 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
20	FEM	49	46	3 NAO / NODULOS SUBCUTANEOS	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
21	FEM	62	58	5 NAO	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
22	FEM	43	20	23 SINDROME DE SJOGREN+VASCULITE REUMATOIDE	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE+CLOROQ
23	FEM	20	18	2 NAO	CORTICOIDE+AINH+AAS
24	FEM	40	38	2 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
25	FEM	60	57	4 NAO	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
26	FEM	66	65	1 NAO	AINH
27	FEM	65	45	20 NAO	CORTICOIDE+AINH
28	FEM	65	55	10 NAO / DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
29	FEM	59	52	7 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
30	FEM	43	30	13 NAO	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
31	FEM	43	39	5 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
32	MAS	32	30	2 NAO	AINH+CLOROQUINA
33	FEM	56	26	30 NAO / DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
34	FEM	68	55	12 NAO / HAS	CORTICOIDE+AINH
35	MAS	36	30	5 NAO / DEFORMIDADES+NODULOS SUBCUTANEOS	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
36	FEM	55	54	2 NAO	CORTICOIDE+AINH
37	FEM	40	35	5 NAO/CISTOS+DEFORMIDADES MAOS E PES	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
38	FEM	32	20	12 NAO/DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
39	FEM	30	26	4 NAO/DEFPRMIDADES	CORTICOIDE+AINH
40	FEM	40	28	12 NAO/DEFORMIDADES+SINOVECTOMIA NAS MAOS	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
41	MAS	32	31	1 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
42	FEM	74	68	6 NAO/HAS	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
43	FEM	75	62	13 SIM/DEFROMIDADES+DERRAME PLEURAL	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
44	MAS	53	41	12 NAO/DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
45	FEM	30	23	8 NAO	AINH+CLOROQUINA+AURANOFIN
46	FEM	54	50	4 NAO	AINH+CLOROQUINA
47	FEM	49	42	7 NAO	AINH+CLOROQUINA
48	MAS	27	25	3 NAO/DPGD	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
49	FEM	64	56	8 NAO/DIABETES MELITUS+DPGD	CORTICOIDE+AINH
50	MAS	42	38	4 NAO/DEFORMIDADES+CHAGAS+	AINH+CLOROQUINA
51	FEM	25	19	6 NAO/DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
52	FEM	55	48	7 NAO/DEFORMIDADES+HAS	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
53	FEM	40	31	9 SIM/VASCULITE DE MMII	CORTICOIDE+AINH+METHOTREXATE
54	FEM	28	26	2 NAO	AINH+CLOROQUINA
55	FEM	48	31	17 NAO	CORTICOIDE+AINH
56	MAS	58	48	10 SIM/DEFORMIDADES+VASCULITE PERIFERICA	CORTICOIDE+AINH
57	FEM	40	25	15 NAO/DEFORMIDADES	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
58	FEM	25	19	6 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA+AURANOFI
59	FEM	64	54	10 NAO/IAM	CORTICOIDE+AINH+AURANOFIN
60	FEM	33	27	6 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA
61	FEM	71	62	9 NAO	CORTICOIDE+AINH+CLOROQUINA

ANEXO.5. DADOS REFERENTES AOS CONTROLES (SEXO; IDADE; ETNIA; PROFISSÃO; ALÓTIPOS DE C3, BF, C4A E C4B)

Record#	SEXOCONTR	IDADECONTR	ETNIACONTR	PROFCONTR	C3CONTROLE	BFCONTROLE	C4CONTROLE
1	FEM	47	BB	PROFESSORA	SF	S	A3,4 B2,1
2	FEM	31	BE	BIOLOGA	S	SF	A3,(0) B1,(1)
3	FEM	37	MM	ZELADORA	S	S	A3,4 B2
4	FEM	50	BB	DO LAR	S	SF	A3,(3) B1,(1)
5	MAS	36	BE	AUX. MANUT.	S	S	A3,(3) B1,(1)
6	FEM	54	BE	DO LAR	S	S	A4,3 B2,1
7	FEM	57	BE	DO LAR	S	SF	A4,3 B1
8	FEM	46	BB	APOSENTADA	S	S	A3,2 B2,1
9	FEM	36	BB	COPEIRA	SF	S	A4,3 B2,1
10	FEM	28	MM	AUX. COZINHA	S	S	A4,2 B2,1
11	FEM	20	MC	DOMESTICA	F	SF	A4,3 B2,1
12	MAS	37	N	VAQUEIRO	S	F	A3,(3) B3,1
13	FEM	43	MC	ZELADORA	SF	SF	A3,2 B2,1
14	FEM	62	BE	DO LAR	F	S	A4,3 B2,1
15	FEM	39	BB	ENCAR. SERV.	SF	S	A6,(0) B1,(1)
16	MAS	49	BB	LAVRADOR	SF	S	A3,(3) B1,(1)
17	MAS	58	BB	MECANICO	SF	S	A8 B1,(1)
18	FEM	32	BB	AUX. COZINHA	S	F	A3,(3) B1,(1)
19	FEM	32	BB	BALCONISTA	S	S	A4,3 B2,1
20	FEM	30	BB	DIARISTA	SF	SF	A3,(3) B1,(0)
21	FEM	33	BB	SERVENTE	S	S	A3 B1
22	FEM	38	BB	PROFESSORA	S	S	A4,3,2 B2
23	FEM	24	MM	DOMESTICA	S	S	A3 B28,1
24	FEM	30	BB	OF. JUSTICA	S	S	A3,(3) B1,(0)
25	FEM	29	BB	BALCONISTA	S	SF	A3,(3),2 B1,(0)
26	FEM	38	BE	BALCONISTA	S	SF	A3,(3) B1,(0)
27	FEM	29	N	AUX. PROD.	S	SF	A3 B1
28	FEM	20	BE	BALCONISTA	S	S	A4,(3) B2,1
29	FEM	22	BB	DO LAR	S	S	A3,0 B3,1(1)
30	FEM	28	BB	SERVENTE	S	S	A3,2 B1,(0)
31	FEM	20	BB	DO LAR	SF	SF	A3,(3) B1,(1)
32	MAS	31	BE	LUBRIFICADOR	S	SF	A3,(0) B1,(1)
33	FEM	34	BB	AUX. ESCRIT.	S	SF	A3,(3) B1,(1)
34	FEM	25	BB	ESTUDANTE	SF	S	A3,(3) B1,(1)
35	MAS	36	BB	BANCARIO	S	SF	A3,(3) B1,(0)
36	FEM	27	BB	DOMESTICA	S	S	A4,(0) B2,(2),1
37	FEM	20	BE	DO LAR	S	SF	A3 B1
38	FEM	21	BB	AUX.COZINHA	S	S	A3,(3) B1
39	FEM	21	BB	ATEN.ENFERM.	S	S	A3,(0) B1,(0)
40	FEM	34	BE	DOMESTICA	SF	SF	A3,2 B2,1
41	MAS	43	MC	ENSACADOR	S	S	A3,(3) B1,(1)
42	FEM	22	BB	DO LAR	S	S	A3,2 B2,1
43	MAS	40	BB	SOLDADOR	S	S	A4,2 B2,(0)
44	FEM	51	BE	FUNC.PUBLICA	S	S	A3 B2,1
45	FEM	33	BE	COSTUREIRA	SF	S	A4,3 B2,28
46	FEM	22	BB	AUX.CREDITO	SF	SF	A4,3 B2,1
47	FEM	22	BB	DOMESTICA	S	S	A3,2 B1,(0)
48	MAS	27	BB	CORRETOR	S	S	A4,3 B2,1
49	FEM	38	BE	DO LAR	S	SF	A3,(3) B1,(0)
50	MAS	41	BB	VIGIA	S	SF	A3,(3) B1,(1)
51	FEM	24	BB	AUX. CRED.	SF	SF	A3,(0) B1,(1)
52	FEM	29	MM	DOMESTICA	S	SF	A3 B1
53	FEM	18	BB	DO LAR	S	S	A3,(0) B1,(1)
54	FEM	27	MC	DOMESTICA	SF	S	A3,(0) B1,(1)
55	FEM	37	MC	COPEIRA	SF	S	A3,(0) B1,(1)
56	MAS	55	BB	LAVRADOR	S	S	A3 B3,1
57	FEM	22	BB	DO LAR	S	SF	A3,(3) B1,(1)
58	FEM	23	BB	ASSESSORISTA	S	S	A4 B2,1
59	FEM	19	BB	DO LAR	S	S	A3,(3) B1,(0)
60	FEM	29	BB	LAVRADORA	S	SF	A3 B1
61	FEM	26	BB	DO LAR	S	SF	A3,(3) B1,(1)

ANEXO.6. DADOS REFERENTES AOS PACIENTES (SEXO; IDADE; PROFISSÃO; ETNIA; IDADE AO DIAGNÓSTICO; DURAÇÃO DA DOENÇA; ALÓTIPOS DE C3, BF, C4A E C4B)

Record#	SEXO	IDADE	PROFISSAO	ETNIA	IDADEDIAGN	DURDOENCA	C3PACIENTE	BFPACIENTE	C4PACIENTE
1	FEM	47	DO LAR	BB	38	9 S	S	A4,3	B1
2	FEM	30	AUX. ESCRIT.	BE	23	7 S	F	A4,3	B2,1
3	FEM	53	DO LAR	MM	50	3 S	SF	A3,(0)	B1,(1)
4	FEM	48	DO LAR	BB	38	10 SF	S	A3,(3)	BQ0
5	MAS	35	PINTOR	BE	23	12 SF	S	A3	B1
6	FEM	53	DO LAR	BE	20	23 SF	SF	A3,(3)	B1,(0)
7	FEM	59	DO LAR	BE	55	4 S	S	A3	B1
8	FEM	68	DO LAR	BB	63	5 S	S	A3	B1
9	FEM	48	DO LAR	BB	40	8 S	S	A4,3	B5,3
10	FEM	32	DIARISTA	MM	25	7 S	S	A3	B1
11	FEM	52	DO LAR	MC	44	4 SF	S	A3	B1
12	MAS	45	ENSACADOR	N	41	4 S	S	A3	B1
13	FEM	43	DO LAR	MC	26	16 SF	SF	A3,2	B1
14	FEM	52	DO LAR	BE	36	16 SF	S	A3,2	B1
15	FEM	60	DO LAR	BB	57	3 SF	S	A6,3,12	B1
16	MAS	42	LAVRADOR	BB	41	2 SF	SF	A3,(3)	B1,(1)
17	MAS	58	ZELADOR	BB	46	12 S	SF	A3,1	B1
18	FEM	34	DO LAR	BB	31	4 S	S	A2,(0)	B1,(1)
19	FEM	37	DO LAR	BB	32	6 S	S	A4,3	B2,1
20	FEM	49	DO LAR	BB	46	3 S	S	A3,(0)	B1,(1)
21	FEM	62	DO LAR	BB	58	5 S	S	A3	B1
22	FEM	43	DO LAR	BB	20	23 SF	S	A3,(3)	B1,(1)
23	FEM	20	DO LAR	MM	18	2 SF	SF	A3,2	B2,1
24	FEM	40	DO LAR	BB	38	2 SF	S	A4	B2,1
25	FEM	60	DO LAR	BB	57	4 SF	S	A6,3,12	B1
26	FEM	66	COSTUREIRA	BE	65	1 S	SF	A6,3,2	B1
27	FEM	65	DO LAR	N	45	20 S	SF	A4,2	B2,1
28	FEM	65	DO LAR	BE	55	10 S	SF	A3,(3)	B1,(0)
29	FEM	59	DO LAR	BB	52	7 S	SF	A3,2	B1,(1)
30	FEM	43	DO LAR	BB	30	13 S	S	A3,(0)	B1,(1)
31	FEM	43	COPEIRA	BB	39	5 S	S	A3,(0)	B1,(1)
32	MAS	32	EMPRETEIRO	BE	30	2 S	S	A3	B22,1
33	FEM	56	DO LAR	BB	26	30 S	S	A3,(3)	B1,(1)
34	FEM	68	DO LAR	BB	55	12 S	S	A3,(3)	B1,(1)
35	MAS	36	MOTORISTA	BB	30	5 SF	SF	A3,(3)	B1,(0)
36	FEM	55	DO LAR	BB	54	2 S	SF	A3,(0)	B4,1
37	FEM	40	DO LAR	BE	35	5 SF	S	A3	B1
38	FEM	32	COSTUREIRA	BB	20	12 S	SF	A3	B1
39	FEM	30	DO LAR	BB	26	4 SF	S	A2	B2,1
40	FEM	40	DO LAR	BE	28	12 S	S	A4	B1
41	MAS	32	MOTORISTA	MC	31	1 S	S	A3,(3)	B1,(0)
42	FEM	74	DO LAR	BB	68	6 S	SF	A3,(0)	B1,(1)
43	FEM	75	DO LAR	BE	62	13 SF	S	A4	B5,11,1
44	MAS	53	APOSENTADO	BB	41	12 S	S	A3	B1
45	FEM	30	SECRETARIA	BE	23	8 S	SF	A4,3	B2,1
46	FEM	54	DO LAR	BB	50	4 S	S	A3	B3
47	FEM	49	DO LAR	BB	42	7 SF	S	A3,(3)	B1,(0)
48	MAS	27	LIXADOR	BB	25	3 SF	S	A3,(0)	B1,(1)
49	FEM	64	DO LAR	BE	56	8 S	SF	A3	B2,1
50	MAS	42	TELEGONISTA	BB	38	4 S	SF	A4,3	B2
51	FEM	25	DO LAR	BB	19	6 S	S	A3,(0)	B1,(1)
52	FEM	55	DO LAR	MM	48	7 S	SF	A3	B1
53	FEM	40	DO LAR	BB	31	9 SF	S	A3	B1
54	FEM	28	DO LAR	MC	26	2 S	S	A3	BQ0
55	FEM	48	DOMESTICA	MC	31	17 S	S	A3,(3)	B1,(0)
56	MAS	58	CARPINTEIRO	BB	48	10 S	S	A3,(3)	B1,(0)
57	FEM	40	PASSADEIRA	BB	25	15 S	S	A3	B5,1
58	FEM	25	DO LAR	BB	19	6 S	SF	A3	B2
59	FEM	64	DO LAR	BB	54	10 S	S	A3	B3,1
60	FEM	33	DO LAR	BB	27	6 S	SF	A3	B3,1
61	FEM	71	COMERCIANTE	BB	62	9 S	SF	A3	B2,1



ANEXO.7. DADOS REFERENTES AOS PACIENTES E AOS CONTROLES (SEXO; IDADE; ETNIA; IDADE AO DIAGNÓSTICO; FORMA CLÍNICA; ANTECEDENTES FAMILIARES; DURAÇÃO DA DOENÇA; DISTRIBUIÇÃO DOS ALÓTIPOS DE C3, BF, C4A E C4B)

Record#	SEXO	IDADE	ETNIA	IDADEIAGN	FORMACLINI	ANTECFAMIL	DURDOENCA	C3PACIENTE	C3CONTROLE	BFPACIENTE	BFCONTROLE	C4PACIENTE	C4CONTROLE
1	FEM	47	BB	38	LEVE	NAO	9 S	SF	S	S		A4,3 B1	A3,4 B2,1
2	FEM	30	BE	23	MODERADA	NAO	7 S	S	F	SF		A4,3 B2,1	A3,(0) B1,(11)
3	FEM	53	MM	50	MODERADA	NAO	3 S	S	SF	S		A3,(0) B1,(11)	A3,4 B2
4	FEM	48	BB	38	SEVERA	SIM	10 SF	S	S	SF		A3,(3) BQ0	A3,(3) B1,(11)
5	MAS	35	BE	23	SEVERA	NAO	12 SF	S	S	S		A3 B1	A3,(3) B1,(11)
6	FEM	53	BE	20	SEVERA	SIM	23 SF	S	SF	S		A3,(3) B1,(0)	A4,3 B2,1
7	FEM	59	BE	55	MODERADA	NAO	4 S	S	S	SF		A3 B1	A4,3 B1
8	FEM	68	BB	63	MODERADA	NAO	5 S	S	S	S		A3 B1	A3,2 B2,1
9	FEM	48	BB	40	MODERADA	NAO	8 S	SF	S	S		A4,3 B5,3	A4,3 B2,1
10	FEM	32	MM	25	MODERADA	NAO	7 S	S	S	S		A3 B1	A4,2 B2,1
11	FEM	52	MC	44	MODERADA	SIM	4 SF	F	S	SF		A3 B1	A4,3 B2,1
12	MAS	45	N	41	MODERADA	NAO	4 S	S	S	F		A3 B1	A3,(3) B3,1
13	FEM	43	MC	26	SEVERA	NAO	16 SF	SF	SF	SF		A3,2 B1	A3,2 B2,1
14	FEM	52	BE	36	MODERADA	NAO	16 SF	F	S	S		A3,2 B1	A4,3 B2,1
15	FEM	60	BB	57	LEVE	NAO	3 SF	SF	S	S		A6,3,12 B1	A6,(0) B1,(11)
16	MAS	42	BB	41	LEVE	NAO	2 SF	SF	SF	S		A3,(3) B1,(11)	A3,(3) B1,(11)
17	MAS	58	BB	46	MODERADA	NAO	12 S	SF	SF	S		A3,1 B1	A8 B1,(11)
18	FEM	34	BB	31	MODERADA	SIM	4 S	S	S	F		A2,(0) B1,(11)	A3,(3) B1,(11)
19	FEM	37	BB	32	LEVE	NAO	6 S	S	S	S		A4,3 B2,1	A4,3 B2,1
20	FEM	49	BB	46	MODERADA	NAO	3 S	SF	S	SF		A3,(0) B1,(11)	A3,(3) B1,(0)
21	FEM	62	BB	58	LEVE	NAO	5 S	S	S	S		A3 B1	A3 B1
22	FEM	43	BB	20	MODERADA	NAO	23 SF	S	S	S		A3,(3) B1,(11)	A4,3,2 B2
23	FEM	20	MM	18	LEVE	SIM	2 SF	S	SF	S		A3,2 B2,1	A3 B28,1
24	FEM	40	BB	38	LEVE	NAO	2 SF	S	S	S		A4 B2,1	A3,(3) B1,(0)
25	FEM	60	BB	57	MODERADA	NAO	4 SF	S	S	SF		A6,3,12 B1	A3,(3),2 B1,(0)
26	FEM	66	BE	65	LEVE	NAO	1 S	S	SF	SF		A6,3,2 B1	A3,(3) B1,(0)
27	FEM	65	N	45	MODERADA	NAO	20 S	S	SF	SF		A4,2 B2,1	A3 B1
28	FEM	65	BE	55	MODERADA	NAO	10 S	S	SF	S		A3,(3) B1,(0)	A4,(3) B2,1
29	FEM	59	BB	52	MODERADA	SIM	7 S	S	SF	S		A3,2 B1,(11)	A3,0 B3,1(11)
30	FEM	43	BB	30	LEVE	SIM	13 S	S	S	S		A3,(0) B1,(11)	A3,2 B1,(0)
31	FEM	43	BB	39	LEVE	NAO	5 S	SF	S	SF		A3,(0) B1,(11)	A3,(3) B1,(11)
32	MAS	32	BE	30	LEVE	SIM	2 S	S	S	SF		A3 B22,1	A3,(0) B1,(11)
33	FEM	56	BB	26	MODERADA	SIM	30 S	S	S	SF		A3,(3) B1,(11)	A3,(3) B1,(11)
34	FEM	68	BB	55	MODERADA	NAO	12 S	SF	S	S		A3,(3) B1,(11)	A3,(3) B1,(11)
35	MAS	36	BB	30	LEVE	NAO	5 SF	S	SF	SF		A3,(3) B1,(0)	A3,(3) B1,(0)
36	FEM	55	BB	54	LEVE	NAO	2 S	S	SF	S		A3,(0) B4,1	A4,(0) B2,(2),1
37	FEM	40	BE	35	MODERADA	NAO	5 SF	S	S	SF		A3 B1	A3 B1
38	FEM	32	BB	20	LEVE	NAO	12 S	S	SF	S		A3 B1	A3,(3) B1
39	FEM	30	BB	26	MODERADA	NAO	4 SF	S	S	S		A2 B2,1	A3,(0) B1,(0)
40	FEM	40	BE	28	MODERADA	SIM	12 S	SF	S	SF		A4 B1	A3,2 B2,1
41	MAS	32	MC	31	LEVE	NAO	1 S	S	S	S		A3,(3) B1,(0)	A3,(3) B1,(11)
42	FEM	74	BB	68	LEVE	NAO	6 S	S	SF	S		A3,(0) B1,(11)	A3,2 B2,1
43	FEM	75	BE	62	SEVERA	NAO	13 SF	S	S	S		A4 B5,11,1	A4,2 B2,(0)
44	MAS	53	BB	41	MODERADA	SIM	12 S	S	S	S		A3 B1	A3 B2,1
45	FEM	30	BE	23	LEVE	SIM	8 S	SF	SF	S		A4,3 B2,1	A4,3 B2,28
46	FEM	54	BB	50	LEVE	SIM	4 S	SF	S	SF		A3 B3	A4,3 B2,1
47	FEM	49	BB	42	LEVE	NAO	7 SF	S	S	S		A3,(3) B1,(0)	A3,2 B1,(0)
48	MAS	27	BB	25	LEVE	NAO	3 SF	S	S	S		A3,(0) B1,(11)	A4,3 B2,1
49	FEM	64	BE	56	LEVE	SIM	8 S	S	SF	SF		A3 B2,1	A3,(3) B1,(0)
50	MAS	42	BB	38	LEVE	NAO	4 S	S	SF	SF		A4,3 B2	A3,(3) B1,(11)
51	FEM	25	BB	19	LEVE	NAO	6 S	SF	S	SF		A3,(0) B1,(11)	A3,(0) B1,(11)
52	FEM	55	MM	48	LEVE	NAO	7 S	S	SF	SF		A3 B1	A3 B1
53	FEM	40	BB	31	MODERADA	NAO	9 SF	S	S	S		A3 B1	A3,(0) B1,(11)
54	FEM	28	MC	26	LEVE	NAO	2 S	SF	S	S		A3 BQ0	A3,(0) B1,(11)
55	FEM	48	MC	31	LEVE	NAO	17 S	SF	S	S		A3,(3) B1,(0)	A3,(0) B1,(11)
56	MAS	58	BB	48	SEVERA	NAO	10 S	S	S	S		A3,(3) B1,(0)	A3 B3,1
57	FEM	40	BB	25	LEVE	SIM	15 S	S	S	SF		A3 B5,1	A3,(3) B1,(11)
58	FEM	25	BB	19	LEVE	SIM	6 S	S	SF	S		A3 B2	A4 B2,1
59	FEM	64	BB	54	MODERADA	NAO	10 S	S	S	S		A3 B3,1	A3,(3) B1,(0)
60	FEM	33	BB	27	LEVE	NAO	6 S	S	SF	SF		A3 B3,1	A3 B1
61	FEM	71	BB	62	LEVE	NAO	9 S	S	SF	SF		A3 B2,1	A3,(3) B1,(11)

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGNELLO, V.; GELL, J.; TYE, M.J. Partial genetic deficiency of the C4 component of complement in discoid lupus erythematosus and urticaria/angioedema. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 9: 894-897, 1983.
2. ALLEN JR, F.H. Linkage of HLA and GBG. *Vox Sang.*, 27: 382-384, 1974.
3. ALPER, C.A. & PROPP, R.P. Genetic polymorphism of the third component of human complement (C3). *J. Clin. Invest.*, 47: 2181-2191, 1968.
4. ALPER, C.A.; BOENISCH, T.; WATSON, L. Genetic polymorphism in human glycine-rich beta-glycoprotein. *J. Exp. Med.*, 135: 68-80, 1972.
5. ALPER, C.A.; AZEN, E.A.; GESERICK, G.; GODDE, H.W.; RITTNER, C.; TEISBERG, P.; WIEME, R. Statement on the polymorphism of the third component of the complement in man (C3). *Vox Sang.*, 25: 18-20, 1973.
6. ALPER, C.A.; RAUM, D.; KARP, S.; AWDEH, Z.L.; YUNIS, E.J. Serum Complement "Supergenes" of the Major Histocompatibility Complex in Man (Complotypes). *Vox Sang.*, 45: 62-67, 1983.
7. ALPER, C.A.; AWDEH, Z.L.; YUNIS, E.J. Complotypes and Extended Haplotypes in Laboratory Medicine. *Complement Inflamm.*, 6: 8-18, 1989.
8. ARNAIZ-VILLENA, A.; GOMEZ-REINO, J.J.; GAMIR, M.L.; REGUEIRO, J.R.; VICARRIO, J.L.; GOMEZ-REINO, F.J.; ALONSO, A.; FERNANDEZ-DAPICA, M.P.; IRIGOYEN, M.U.; MATEO, I.; ZEA, A. DR, C4, and BF allotypes in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 27: 1281-1285, 1984.
9. ARNETT, F.C.; EDWORTHY, S.M.; BLOCH, D.A.; McSHANE, D.J.; FRIES, J.F.; COOPER, N.S.; HEALEY, L.A.; KAPLAN, S.R.; LIANG, M.H.; LUTHRA, H.S.; MEDSGER JR, T.A.; MITCHELL, D.M.; NEUSTADT, D.H.; PINALS, R.S.; SCHALLER, J.G.; SHARP, J.T.; WILDER, R.L.; HUNDER, G.G. The American Rheumatism Association 1987 revised

- criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 31: 315-324, 1988.
10. AWDEH, Z.L. & ALPER, C.A. Inherited structural polymorphism of the fourth component of human complement (C4). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77: 3576-3580, 1980a.
  11. AWDEH, Z.L. & ALPER, C.A. Inherited polymorphism of human C4 revealed by desialization. *Immunobiology.* 158: 35-41, 1980b.
  12. AWDEH, Z.L.; RAUM, D.; YUNIS, E.J.; ALPER, C.A. Extended HLA / complement allele haplotypes: Evidence for T/E - like complex in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 259, 1983.
  13. AWDEH, Z.L.; RAUM, D.; YUNIS, E.J.; ALPER, C.A. An extended major histocompatibility haplotype with duplicated C4A. *Immunobiology.* 164: 317 (abstract), 1984.
  14. BATCHELOR, J.R.; FIELDER, A.H.L.; WALPORT, M. Family study of the major histocompatibility complex in HLA DR3 negative patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.*, 70: 364-371, 1988.
  15. BAUR, M.P.; BERTRAMS, J.; LOUTON, T.K.; MAUFF, G.; RITTNER, C.; SCHAEDE, C. Human C4 haplotype frequencies and their linkage disequilibria in the German population. (unpublished), 1984.
  16. BELT, K.T.; CARROLL, M.C.; PORTER, R.R. The structural basis of the multiple forms of human complement C4. *Cell*, 36: 907-914, 1984.
  17. BISHOP, N.A.; WELCH, T.R.; BEISCHEL, L.S. C4B Deficiency: A Risk Factor for Bacteremia with Encapsulated Organisms. *J. Infect. Dis.*, 162: 248-250, 1990.
  18. BRIGGS, D.C.; SENALDI, G.; ISENBERG, D.A.; WELSH, K.I.; VERGANI, D. Influence of C4 null alleles on C4 activation in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.*, 50: 251-254, 1991.
  19. BRITTON, M.C. & SCHUR, P.H. The complement system in rheumatoid synovitis. II. Intracytoplasmic inclusions of

- immunoglobulins and complement. *Arthritis Rheum.*, 14: 87-95, 1971.
20. BRÖNNESTAM, R. Studies of the C3 polymorphism. Relationship between C3 phenotypes and rheumatoid arthritis. *Hum. Hered.*, 23: 206-213, 1973.
21. BRUUN-PETERSEN, G.; LAMM, L.U.; JACOBSEN, B.K.; KRISTENSEN, T. Genetic of complement C4. Two homoduplication haplotypes C4SC4S and C4FF4F in a family. *Hum. Genet.*, 61: 36-38, 1982.
22. BUDOWLE, B.; ROSEMAN, J.M.; GO, R.C.P.; LOUV, W.; BARGER, B.O.; ACTON, R.T. Phenotypes of the fourth complement component (C4) in Black Americans from the Southeastern United States. *J. Immunogenet.*, 10: 199-204, 1983.
23. CAMPBELL, R.D.; DUNHAM, I.; SARGENT, C.A. Molecular Mapping of the HLA - Linked Complement Genes and the RCA Linkage Group. *Expl. Clin. Immunogenet.*, 5: 81-98, 1988.
24. CARROLL, M.C.; PALSDOTTIR, A.; BELT, K.T.; PORTER, R.R. Deletion of complement C4 and steroid 21-Hydroxylase genes in the HLA class III region. *EMBO. J.*, 4: 2547-2552, 1985.
25. CLARKSON, R.; BATE, A.S.; GRENNAN, D.M.; CHATTOPADHYAY, C.; SANDERS, P.; DAVIS, M.; KELLY, C. DQw7 and the C4B null allele in rheumatoid arthritis and Felty's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.*, 49: 976-979, 1990.
26. CLARKSON, R.W.E.; SANDERS, P.A.; GRENNAN, D.M. Complement C4 null alleles as a marker of gold or D-Penicillamine toxicity in the treatment of RA. *Br. J. Rheumatol.*, 31: 53, 1992.
27. CLERGET-DARPOUX, F.; BABRON, M.C.; PRUM, B. A new method to test the genetic models in HLA associated disease: the MASC method. *Ann. Hum. Genet.*, 52: 247-258, 1988.
28. COLTEN, H.R.; ALPER, C.A.; ROSEN, F.S. **Genetic control of complement proteins.** In Opferkuch W. Rother

- K. Schultz DR (eds): Clinical Aspects of the Complement System. Stuttgart, Georg Thieme Publishers, pp. 200-206, 1978.
29. COOKE, T.D. & JASIN, H.E. The pathogenesis of chronic inflammation in experimental antigen-induced arthritis. I. The role of antigen on the local immune response. **Arthritis Rheum.**, 15: 327-337, 1972.
30. COOKE, T.D.; HURD, E.R.; ZIFF, M. The pathogenesis of chronic inflammation in experimental antigen-induced arthritis. II. Preferential localization of antigen-antibody complexes to collagenous tissues. **J. Exp. Med.**, 135: 323-338, 1972.
31. DAHLQUIST, S.R.; BECKMAN, G.; BECKMAN, L. Bf and C3 complement types in rheumatoid arthritis. **Hum. Hered.**, 35: 240-245, 1985.
32. DAHLQUIST, S.R. Genetic markers in rheumatoid arthritis. **Scand. J. Rheumatol. Suppl.**, 58: 1-29, 1986.
33. DALTON, T.A. & BENNET, J.C. Autoimmune Disease and the Major Histocompatibility Complex: Therapeutic Implications. **Am. J. Med.**, 92: 183-188, 1992.
34. DAWKINS, R.L.; CHRISTIANSEN, F.T.; KAY, P.H.; GARLEPP, M.; McCLUSKEY, J.; HOLLINGSWORTH, P.N.; ZILKO, P.J. Disease association with complotypes and haplotypes. **Immunol. Rev.**, 70: 5-22, 1983.
35. de MESSIAS, I.J.T.; REIS, A.; BRENDEN, M.; QUEIROZ-TELLES, F.; MAUFF, G. Association of Major Histocompatibility Complex Class III Component C2, BF and C4 with Brazilian Paracoccidioidomycosis. **Complement Inflamm.**, 8: 288-293, 1991a.
36. de MESSIAS, I.J.T.; REIS, A.; ALMEIDA, P.T.; MAUFF, G. Polimorfismo Genético das Proteínas da Classe III do MHC (C2, BF e C4) no Brasil. Novas variantes são descritas: BF S055 e C4 A58. XVI Congresso Brasileiro de Imunologia, Caxambu, Brasil, 1991b.

- 37.de MOUZON, A.; OHAYON, E.; DUCOS, J.; HAUPTMANN, G. Bf and C4 markers for insulin-dependent diabetes in Basques. *Lancet*, 2: 1364, 1979.
- 38.del PUENTE, A.; KNOWLER, W.C.; PETTIT, D.J.; BEBBET, P.H. The incidence of rheumatoid arthritis is predicted by rheumatoid factor titer in a longitudinal population study. *Arthritis Rheum.*, 31: 1239-1244, 1988.
- 39.DISSING, J.; LUND, J.; SOERENSEN, H. C3 polymorphism in a group of old arteriosclerotic patients. *Hum. Hered.*, 22: 466-472, 1972.
- 40.DODDS, A.W.; LAW, S.K.A.; PORTER, R.R. The purification and properties of some less common allotypes of the fourth component of complement. *Immunogenetics*, 24: 279-285, 1986.
- 41.DOXIADES, G. & GROSSE-WILDE, H. Allotyping by prolonged gel electrophoresis and immunoblotting using monoclonal and polyclonal antibodies. *Complement Inflamm.*, 7: 269-276, 1990.
- 42.DYER, P.A.; KLOUDA, P.T.; HARRIS, R.; MALLICK, N.P. Properdin factor B alleles in patients with idiopathic membranous nephropathy. *Tissue Antigens*, 15: 505, 1980.
- 43.DYER, P.A.; GRENNAN, D.M.; WALTON, K.; KLIMIUK, P.; DODDS, W.W.; CLAGUE, R.; HARRIS, R. HLA and properdin factor B (Bf) in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 43: 118, 1984.
- 44.DYER, P.A.; GRENNAN, D.M.; DODDS, W.; WALTON, K.; READ, A.P.; KLIMIUX, P.; CLAGUE, R.; HARRIS, R. Genetic variants of properdin factor B (Bf) in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 12: 456-457, 1985.
- 45.DYER, P.A.; THOMSON, W.; SANDERS, P.A.; GRENNAN, D.M. Are major histocompatibility system class III product independent markers for susceptibility to rheumatoid arthritis? *Disease Markers*, 4: 151-155, 1986.

- 46.EICHENFIELD, L.F. & JOHNSTON, R.B. Secondary Disorders of the Complement System. *Am. J. Dis. Child.*, 143: 595- 602, 1989.
- 47.FARHUD, D.D.; ANANTHAKRISHNAN, R.; WALTER, H. Association between C3 phenotypes and various diseases. *Hum. Genet.*, 17: 57-60, 1972.
- 48.FARHUD, D.D. & WALTER, H. Polymorphism of C3 in German, Bulgariann, Iranian and Angolan population. *Human Genet.*, 17: 161-164, 1973.
- 49.FEARON, D.T. & AUSTEN, K.F. The alternative pathway of complement: A system for host resistance to microbial infection. *N. Engl. J. Med.*, 303: 259, 1980.
- 50.FEARON, D.T. Complement. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 71: 520, 1983.
- 51.FESTENSTEIN, H.; AWAD, J.; HITMAN, G.A. New HLA DNA polymorphisms associated with autoimmune diseases. *Nature*, 322: 64-67, 1986.
- 52.FIELDER, A.H.L.; VAKARELIS, B.N.; BATCHELOR, J.R.; COMPSTON, D.A.S.; McDONALD, W.I. Optic neuritis and multiple sclerosis. Do factor B alleles influence progress of disease? *Lancet*, 2: 246, 1981.
- 53.FIELDER, A.H.L.; WALPORT, M.J.; BATCHELOR, J.R.; RYNES, R.J.; BLACK, R.I.; DODI, J.A.; HUGHES, G.R.V. Family study of the major histocompatibility complex in patients with systemic lupus erythematosus: importance of null alleles of C4A and C4B in determining disease susceptibility. *Br. Med. J.*, 286: 425-428, 1983.
- 54.FIELDER, A.H.L.; OLLIER, W.; LORD, D.K.; BURKE, A.S.; AWAD, J.; FESTENSTEIN, H.; BATCHELOR, J.R. HLA class III Haplotypes in multicase Rheumathoid Arthritis Families. *Human Immunol.*, 25: 75-85, 1989.
- 55.FLEISCHNICK, E.; AWDEH, Z.L.; RAUM, D.; GRANADOS, J.; ALOSCO, S.M.; CRIGLER Jr, J.F.; GERALD, P.S.; YUNIS, E.J.; ALPER, C.A. Extended MHC haplotypes in 21-hydroxylase-deficiency congenital adrenal hyperplasia:



- Shared genotypes in unrelated patients. *Lancet*, 1: 152, 1983.
- 56.GARROD, A.E. *A Treatise on Rheumatism and Rheumatoid Arthritis*. London, Charles Griffin, 1890.
- 57.GESERICK, G.; ABBAL, M.; BRENDEN, M.; DRAUN-STILWELL, M.; MAUFF, G.; SCHRÖDER, H.; SIEMENS, I. Factor B Reference Typing Report. *Complement Inflamm.*, 7: 183-189, 1990a.
- 58.GESERICK, G.; ABBAL, M.; MAUFF, G.; SIEMENS, I. Factor B (Bf) Nomenclature Statement. *Complement Inflamm.*, 7: 255-260, 1990b.
- 59.GEWURZ, A.; LINT, T.F.; ROBERTS, J.L. Homozygous C2 deficiency with fulminant lupus erythematosus. Severe nephritis via the alternative complement pathway. *Arthritis Rheum.*, 21: 28, 1978.
- 60.GOLDSTEIN, R.; DUFFS, C.; KARSH, J. Functional assesment and symptoms of rheumatoid arthritis in relation to menstrual cycle phase. *J. Rheumatol.*, 14: 395-397, 1987.
- 61.GÖTZE, O. & MÜLLER-EBERHARD, H.J. Isolation of the precursor and the active form of the C3 activator from human serum. *J. Immunol.*, 107: 313 (Abstract), 1971.
- 62.GRAN, J.T.; HUSBY, G.; THORSBY, E. The association between rheumatoid arthritis and the HLA antigen HLA-DR4. *Ann. Rheum. Dis.*, 42: 292-296, 1983.
- 63.GREINER, J.; WEBER, F.J.; MAUFF, G.; BAUR, M.P. Genetic polymorphisms of properdin factor B (BF), the second component (C2), and the fourth component (C4) of complement in leprosy patients and healthy controls from Thailand. *Immunobiol.*, 158: 134-138, 1980.
- 64.GRENNAN, D.M.; DYER, P.A.; DODDS, W.; READ, A.; HAENEY, M.; CLAGUE, R.; HARRIS, R. Clinical and immunogenetics studies in multicase rheumatoid families. *Q. J. Med.*, 212: 479-485, 1984.

- 65.HARRIS, H. **The principles of human biochemical genetics.** ed.3., New York, Elsevier / North Holland, p. 331, 1980.
- 66.HAUPT, H. & HEIDE, K. Isolierung und Eigenschaften eines beta-2-Glykoproteins aus Humanserum. **Clin. Chim. Acta.**, 12: 419-424, 1965.
- 67.HAUPTMANN, G. Lupus erythematosus aigus et deficits hereditaires en complement. **Ann. Dermatol. Syphil.**, 101: 479-496, 1974.
- 68.HAUPTMANN, G. Frequency of Complement Deficiencies in Man, Disease Associations and Chromosome Assignment of Complement Genes and Linkage Groups. **Complement Inflamm.**, 6:74-80, 1989.
- 69.HELLMAN, U.; EGGERTSEN, G.; LUNDWALL, A.; ENGSTRÖM, A.; SJÖQUIST, J. Primary sequence differences between Chido and Rodgers variants of tryptic C4d of the human complement system. **FEBS. Lett.**, 170: 254-258, 1984.
- 70.HOLLANDER, J.L.; McCARTHY, D.J.; ASTORGA, G.; CASTRO-MURILLO, E. Studies on the pathogenesis of rheumatoid arthritis and joint inflammation. I. The RA cells and a working hypothesis. **Ann. Int. Med.**, 62: 271, 1965.
- 71.HOWARD, P.F.; HOCHBERG, M.C.; BIAS, W.B.; ARNETT, F.C.; McLEAN, R.H. Complement component genes C4A, C4B and Bf in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum. Suppl.**, 29: 69 (Abstr. C44), 1984.
- 72.HOWARD, P.F.; HOCHBERG, M.C.; BIAS, W.B.; ARNETT, F.C.; McLEAN, R.H. Relationship between C4 null genes, HLA-D region, antigens and genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in Caucasians and Black Americans. **Am. J. Med.**, 81: 187-193, 1986.
- 73.ISENMAN, D.E. & YOUNG, J.R. The molecular basis for the difference in immune hemolysis activity of the Chido and Rodegers isotypes of human complement component C4. **J. Immunol.**, 132: 3019-3027, 1984.

74. ISENMAN, D.E. & YOUNG, J.R. Covalent binding properties of the C4A and C4B isotypes of the fourth component of human complement on several C1 bearing cell surfaces. *J. Immunol.*, **136**: 2542-2550, 1984.
75. KAY, P.H.; McCLUSKEY, J.; CHRISTIANSEN, F.T.; FEENEY, D.; McCANN, V.J.; ZILKO, P.J.; DAWKINS, R.L.; O'NEILL, G.J. Complement allotyping reveals new genetic markers in rheumatoid arthritis and diabetes mellitus. *Tissue Antigens*, **21**: 159-160, 1983.
76. KEMP, M.E.; ATKINSON, J.P.; SKANES, V.M.; LEVINE, R.P.; CHAPLIN, D.D. Deletion of C4A genes in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, **30**: 1015-1022, 1987.
77. KLOUDA, P.T.; CORBIN, S.A.; BRADLEY, B.A. HLA and acute arthritis following human parvovirus infection. *Tissue Antigens*, **28**: 318-319, 1986.
78. KOOPMAN, W.J. & GAY, S. Do non-immunologically mediated pathways play a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Rheum. Dis. Clin. N. Am.*, **19**(1): 107-122, 1993.
79. KRANE, S.M. & SIMON, L.S. Rheumatoid arthritis: clinical characteristics and pathogenetic mechanisms. *Med. Clin. N. Am.*, **2**: 273-296, 1986.
80. LANCHBURY, J.S.S.; PAL, B.; PAPIHA, S.S. Bf and C3 polymorphism in rheumatoid arthritis. *Hum. Hered.*, **37**: 144-149, 1987.
81. LATMAN, N.S. Relation of the menstrual cycle phase to symptoms of rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.*, **74**: 957-960, 1983.
82. LAW, S.K.A.; DODDS, A.W.; PORTER, R.R. A comparison of the properties of two classes C4A and C4B, of the human complement component C4. *EMBO J.*, **3**: 1819-1823, 1984.
83. LAWRENCE, J.S. Prevalence of rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, **20**: 11-17, 1961.
84. LAWRENCE, J.S. *Rheumatism in Populations*. London, Heinemann, 1977.

- 85.LIPSKI, P.E. Immunopathogenesis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J. Rheumatol.*, (Suppl. 32) 19: 92-94, 1992.
- 86.MAUFF, G.; HUMMEL, K.; PULVERER, G. Properdin Factor B (glycine-rich beta-glycoprotein or C3 proactivator)-polymorphism: genetic and biochemical aspects, first application to paternity cases. *Z. Immun. Forsch.*, 150: 327-338, 1975.
- 87.MAUFF, G.; GAUCHEL, F.D.; HITZEROTH, H.W. Polymorphism of properdin factor B in South African, Negroid, Indian and Colored populations. *Hum. Genet.*, 33: 319-322, 1976.
- 88.MAUFF, G. Untersuchungen zum Komplementsystem des Menschen. Genetik und Biochemie der dritten und vierten Komponente des Komplementsystems sowie des Properdinfaktor B. Dissertation, University of Köln, 1977.
- 89.MAUFF, G.; BENDER, K.; FISCHER, B. Genetic polymorphism of the fourth component of human complement. *Vox Sang.*, 34: 296-301, 1978.
- 90.MAUFF, G.; BENDER, K.; GILES, C.M.; GOLDMANN, S.; OPFERKUCH, W.; WACHAUF, B. Human C4 polymorphism: Pedigree analysis of qualitative, quantitative, and functional parameters create a basis for phenotype interpretations. *Hum. Genet.*, 65: 362-372, 1984.
- 91.MAUFF, G. **The Complement System: Genetics and Function.** In Trends in Hematology, Warsaw, 1985
- 92.MAUFF, G. Application of the MHC-class III complement markers to population genetics. In: E. Ohayon, A. Cambon, Thomsen (eds): **Human Population Genetics**, Les Editions INSERM, Paris, p. 143-166, 1986.
- 93.MAUFF, G.; ALPER, C.A.; DAWKINS, R.; DOXIADES, G.; GILES, C.M.; HAUPTMANN, G.; RITTNER, C.; SCHNEIDER, P.M. C4 Nomenclature Statement (1990). *Complement Inflamm.*, 7: 261-268, 1990.

- 94.MAYER, M.M.; MICHAELS, D.W.; RAMM, L.E.; SHIN, M.L.; WITLOW, M.B.; WILLOUGHBY, J.B. Membrane damage by complement. *CRC Crit. Rev. Immunol.*, 2: 133, 1981.
- 95.McCLUSKEY, J.; KAY, P.H.; DAWKINS, R.L.; KOMORI, K.; CHRISTIANSEN, F.T.; McCANN, V.J. Association of specific MHC supratypes with rheumatoid arthritis and insulin-dependent diabetes mellitus. *Disease Markers*, 1: 197-212, 1983.
- 96.McLEAN, R.H.; KENNEDY, T.L.; BALLOW, M.; GAUDIO, K.M.; SIEGEL, N.J. Increased frequency of factor B Fast variant (BF\*F) in the idiopathic nephrotic syndrome. *Disease Markers*, 1: 25, 1983.
- 97.McLEAN, R.H. & WINKELSTEIN, J.A. Genetically determined variation in the complement system: Relationship to disease. *J. Ped.*, 105: 179-188, 1984.
- 98.MEVAG, B.; OLAISEN, B.; TEISBERG, P. Electrophoretic polymorphism of human C4 is due to charge differences in the alpha-chain, presumably in the C4d fragment. *Scand. J. Immunol.*, 14: 303-307, 1981.
- 99.MIGONE, N.; MALAVASI, F.; BOSCHIS, D.; MODENA, V. BF polymorphism and ankylosing spondylitis. *Lancet*, 2: 163, 1978.
- 100.MOLLENHAUER, E.; SCHMIDT, R.E.; HEINRICHS, M.; RITTNER, C. Scleroderma: possible significance of silent alleles at the C4B locus. *Arthritis Rheum.*, 27: 711-712, 1984.
- 101.MOULDS, J.M.; WARNER, N.B.; ARNETT, F.C. Quantitative and Antigenic Differences in Complement Component C4 between American Blacks and Whites. *Complement Inflamm.*, 8: 281-287, 1991.
- 102.NAAMA, J.K.; NIVEN, I.P.; ZOMA, A.; MITCHELL, W.S.; WHALEY, K. Complement, antigen-antibody complex and immune complex disease. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 17: 59-67, 1985.
- 103.NERL, C.W.; MAYEUX, R.; O'NEIL, G.J. Complement C4 allotypes in Alzheimer's disease. *Lancet*, 2: 1343, 1982.

- 104.NISHIMUKAI, H.; KITAMURA, H.; SANO, Y.; TAMAKI, Y. C3 variants in Japanese. *Hum. Hered.*, 35: 69-72, 1985.
- 105.NUNEZ-ROLDAN, A.; ARGUER, E.; VILLECHENOUS, E.; de la PARDA, M. Studies of the HLA-DR antigens in rheumatoid arthritis. *Rev. Esp. Rheumatol.*, 9: 9-11, 1982.
- 106.O'NEIL, G.J.; NEEL, C.W.; KAY, P.H.; CHRISTIANSEN, F.T.; McCLUSKEY, J.; DAWKINS, R.L. Complement C4 is a marker for adult rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2: 214, 1982.
- 107.OWEN, F.; LOFTHOUSE, R.; CROW, T. Properdin factor B and glyoxalase I polymorphism in celiac disease. *N. Engl. J. Med.*, 303: 530, 1980.
- 108.PAPIHA, S.G. & RODGER, R.S.C. C3 and Bf component types in chronic renal failure. *Hum. Genet.*, 72: 260-261, 1986.
- 109.PAUL, L.; SKANES, V.M.; MAYDEN, J.; LEVINE, R.P. C4-Mediated Inhibition of Immune Precipitation and Differences in Inhibitory Action of Genetic Variants, C4A3 and C4B1. *Complement*, 5: 110-119, 1988.
- 110.PARTANEN, J.; VAN ASSENDELFT, A.H.; KOSKIMIES, S.; FORSBERG, S.; HAKALA, M.; ILONEN, J. Patients with rheumatoid arthritis and gold-induced pneumonitis express two high-risk major histocompatibility complex patterns. *Chest*, 92: 277-281, 1987.
- 111.PERSELLIN, R.H. The effect of pregnancy on rheumatoid arthritis. *Bull. Rheum. Dis.*, 27: 9226, 1977.
- 112.PORTER, R.R. Complement polymorphism, the MHC and associated disease: a speculation. *Mol. Biol. Med.*, 1: 161-168, 1983.
- 113.PUTTICK, A.H.; BRIGGS, D.C.; WELSH, K.I.; VAUGHAN, R.; WILLIAMSON, E.A.; BOYCE, M.; JACOBY, R.K.; JONES, V.E. Genes associated with rheumatoid arthritis and mild inflammatory arthritis. I. Major histocompatibility complex class I, II, and III allotypes. *Ann. Rheum. Dis.*, 49: 219-224, 1990a.
- 114.PUTTICK, A.H.; BRIGGS, D.C.; WELSH, K.I.; WILLIAMSON, E.A.; JACOBY, R.K.; JONES, V.E. Genes associated with

- rheumatoid arthritis and mild inflammatory arthritis. II. Association of HLA with complement C3 and immune globulin Gm allotypes. *Ann. Rheum. Dis.*, **49**: 225-228, 1990b.
115. RAUM, D.; STEIN, R.; ALPER, C.A.; GABBAY, K.H. Genetic marker for insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* **1**:1208, 1979.
116. RAUM, D.; AWDEH, D.; GLASS, K.; KAMMER, G.; KHAN, M.A.; COBLYN, J.S.; WEIBLATT, M.; HOLDSWORTH, D.; STRONG, L.; ROSSEN, R.D.; BREWER, E.; YUNIS, E.; ALPER, C.A. Extended haplotypes of chromosome 6 in adult rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, **27**: 516-521, 1984a.
117. RAUM, D.; AWDEH, Z.; ANDERSON, J.; STRONG, L.; GRANADOS, J.; TERAN, L.; GIBLETT, E.; YUNIS, E.J.; ALPER, C.A. Human C4 haplotypes with duplicated C4A or C4B. *Am. J. Hum. Genet.*, **36**: 72-79, 1984b.
118. REVEILLE, J.D.; ARNETT, F.C.; WILSON, R.W.; BIAS, W.B.; McLEAN, R.H. Null alleles of the fourth component of human complement and HLA haplotypes in familial systemic lupus erythematosus. *Immunogenetics*, **21**: 299-311, 1985.
119. RITTNER, C. Genetic loci of components of the classic and alternate pathways of complement activation: A new dimension of the immunogenetic linkage group (HLA) on chromosome nº 6 in man. *Hum. Genet.*, **35**: 1-20, 1976.
120. RITTNER, C. & BERTRAMS, J. On the significance of C2, C4 and Factor B polymorphism in disease. *Hum. Genet.*, **56**: 235-247, 1981.
121. RITTNER, C. Chromosomes and complement in scleroderma. *Proceedings of the Scleroderma Symposium London*, 12-13 May 1983, Smith, Kline and French Laboratories, London, pp. 23-28, 1983.
122. RITTNER, C.; GILES, C.M.; ROOS, M.H.; DEMANT, P.; MOLLENHAUER, E. Genetics of Human C4 polymorphism:

- detection and segregation of rare and duplicated haplotypes. *Immunogenetics*, 19: 321-333, 1984a.
- 123.RITTNER, C.; KÜHNLE, P.; BLACK, C.M.; PEREIRA, S.; WELSH, K.I. Scleroderma: possible association with the C4 system - a progress report. In: Albert ED, Baur MP, Mayr W (eds) Histocompatibility testing 1984. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1984b.
- 124.RITTNER, C.; MEIER, E.M.M.; STRADMAN, B.; GILES, C.M.; KÖCHLING, R.; MOLLENHAUER, E.; KRETH, H.W. Partial C4 deficiency in subacute sclerosing panencephalitis. *Immunogenetics*, 20: 407-415, 1984c.
- 125.RITTNER, C. & STRADMAN-BELLINGHAUSEN, B. C3 Reference Typing Report and Nomenclature Revision. *Complement Inflamm.*, 7: 230-233, 1990.
- 126.ROPES, M.W.; BENNET, G.A.; COBB, S.; JACOB, R.; JESSAR, R.A. 1958 revision of diagnostic criteria for rheumatic arthritis. *Bull. Rheum. Dis.*, 9: 175-176, 1958.
- 127.ROTHER, K. & TILL, G.O. *The Complement System*. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, Germany, 535p., 1988.
- 128.ROWE, P.C.; McLEAN, R.H.; WOOD, R.A.; LEGGIADRO, R.J.; WINKELSTEIN, J.A. Association of Homozygous C4B Deficiency with Bacterial Meningitis. *J. Infect. Dis.*, 160: 448-451, 1989.
- 129.RUDGE, S.R.; KOWANKO, J.C.; DRURY, P.L. Menstrual cyclicity of finger joint size and grip strength in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 42: 425-430, 1983.
- 130.RUDDY, S.; CARPENTER, C.B.; CHIN, K.W.; KNOTMAN, J.W.; SOTER, N.A.; GOTZE, O.; MÜLLER-EBERHARD, H.J.; AUSTEN, K.F. Human complement metabolism: An analysis of 144 studies. *Medicine*, 54: 165, 1975.
- 131.RYDER, L.P. & SVEJGAARD, A. Genetics of HLA disease association. *Annual Rev. Genetics*, 15: 169-187, 1981.
- 132.SANDERS, P.A.; GRENNAN, D.M.; DYER, P.A.; THOMSON, W.; de LANGE, G.G. A comparison of clinical



- and immunogenetic features in familial and sporadic rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, **14**: 718-722, 1987.
- 133.SANDERS, P.A.; THOMSON, W.; DYER, P.A.; GRENNAN, D.M. Haplotypes bearing HLA-A, -B and -DR: Bf and C4 genes in rheumatoid arthritis families. *Tissue Antigens*, **33**: 21-29, 1988.
- 134.SCHIFFERLI, J.A.; STEIGER, G.; PACCAUD, J.P.; SJÖHOLM, A.G.; HAUPTMANN, G. Difference in the biological properties of the two forms of the fourth component of human complement (C4). *Clin. exp. Immunol.*, **63**: 473-477, 1986.
- 135.SCHIOTZ, P.O.; HIOBY, N.; NORLING, N.; SÖRENSEN, H. C3 polymorphism in a Danish cystic fibrosis population and its possible association with antibody response. *Hum. Hered.*, **28**: 293-300, 1978.
- 136.SCHRÖDER, R.; ZANDER, H.; ANDREAS, A.; MAUFF, G. Multiple sclerosis: immunogenetic analysis of sibpair doublecase families. II. Studies on the association of multiple sclerosis with C2, C4, BF, C3, C6, and Gm polymorphisms. *Immunobiology*, **164**: 160-170, 1983.
- 137.SNYDERMAN, R. Inflammations mechanisms and leucocytes chemotaxis in rheumatic diseases. *Med. Clin. N. Am.*, **2**: 227-246, 1986.
- 138.SPECTOR, T.D. & SILMAN, A.J. Postmenopausal oestrogens and rheumatoid arthritis: A case control study. *Br. J. Rheumatol.*, **27** (Suppl.1): 3, 1988.
- 139.SPECTOR, T.D. Rheumatoid Arthritis. *Rheum. Dis. Clin. N. Am.*, **16**(3): 513-537, 1990.
- 140.STATSNY, P. Association of the B-cell autoantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, **298**: 869-887, 1978.
- 141.STATSNY, P. **Rheumatoid Arthritis**. In Terasaki (ed): *Histocompatibility Testing*. Los Angeles, UCLA Press, pp. 681-686, 1980.

142. STEINBROCKER, O.; TREAGER, C.H.; BATTERMAN, R.C. Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA*, **140**: 959, 1949.
143. STEUER, M.; MAUFF, G.; ADAM, C.; BAUR, M.P.; BENDER, K.; GOETZ, J.; GOLDMANN, S.F.; HAUPTMANN, G.; NEUGEBAUER, M.; TONGIO, M.M.; URING-LAMBERT, B.; WOLPL, A. An estimate on the frequency of duplicated haplotypes and silent alleles of human C4 protein polymorphism. I. Investigations in healthy Caucasoid families. *Tissue Antigens*, **33**: 501-510, 1989.
144. SWISS FEDERAL COMMISSION FOR THE RHEUMATIC DISEASES. Sub-commission for Research. HLA-DR antigens in rheumatoid arthritis. A Swiss collaborative study, final report. *Rheumatol. Int.*, **6**: 89-92, 1986.
145. TAKEUCHI, F.; MIMORI, A.; MATSUTA, K.; NAKANO, K.; MIYAMOTO, T.; MATSUKI, K.; JUJI, T.; MAEDA, H.; OMOTO, K.; TOKUNAGA, K. Association of complement alleles C4A00 and C4B5 with rheumatoid arthritis in Japanese patients. *Arthritis Rheum.*, **32**: 691-698, 1989.
146. TAPPEINER, G. Disease States in Genetic Complement Deficiencies. *Int. J. Dermatol.*, **21**: 175-191, 1982.
147. TEISBERG, P. High voltage agarose gel electrophoresis in the study of C3 polymorphism. *Vox Sang.*, **19**: 47-56, 1970.
148. TEISBERG, P. The distribution of C3 types in Norway. *Hum. Hered.*, **21**: 154-161, 1971.
149. THOMSON, W.; DYER, P.A.; SANDERS, P.A.; GRENNAN, D.M. Genetic variants of complement component 3 (C3) in DR4 positive and DR4 negative rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, **45**: 269-271, 1986a.
150. THOMSON, W.; DYER, P.A.; SANDERS, P.A.; GRENNAN, D.M. C3, Gm, and Pi polymorphism in rheumatoid arthritis. *Disease Markers*, **4**: 145-150, 1986b.
151. THOMSON, W.; SANDERS, P.A.; DAVIS, M.; DAVIDSON, J.; DYER, P.A.; GRENNAN, D.M. Complement C4B-null

- alleles in Felty's Syndrome. *Arthritis Rheum.*, 31: 984-989, 1988.
152. TILLEY, C.A.; ROMANS, D.G.; CROOKSTON, M.C. Localization of Chido and Rogers determinants to the C4d fragment of human C4. *Nature*, 276: 713-715, 1978.
153. TOKUNAGA, K.; ARAKI, C.; JUJI, T.; OMOTO, K. Polymorphism of properdin factor B in Japanese. Description of a rare variant and data of association with HLA and C2. *Hum. Genet.*, 60: 42-45, 1982.
154. TOKUNAGA, K.; OMOTO, K.; AKAZA, T.; AKIYAMA, N.; AMEMIYA, H.; NAITO, S.; SASAZUKI, T.; SATOH, H.; JUJI, T. Haplotype study on C4 polymorphism in Japanese. Associations with MHC alleles, complotypes, and HLA-component haplotypes. *Hum. Genet.*, (in press), 1986.
155. TRENTHAM, D.E. The immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *J. Rheumatol. Suppl.*, 12: 7-10, 1985.
156. VANDENBROUCKE, J.P.; WITTEMAN, J.C.; VALKENBURG, H.A. Noncontraceptive hormones and rheumatoid arthritis in perimenopausal and postmenopausal women. *JAMA*, 255: 1299-1303, 1986.
157. WANK, R.; SCHENDEL, D.J.; O'NEIL, G.J.; RIETHMÜLLER, G.; HELD, E.; FEUCHT, H.E. Rare variant of complement C4 is seen in high frequency in patients with primary glomerulonephritis. *Lancet*, 1: 872-873, 1984.
158. WARLOW, R.S.; UKO, G.; McCLUSKEY, J.; KAY, P.H.; CHRISTIANSEN, F.T.; DAWKINS, R.L. Extractable nuclear antigens (ENA) auto antibodies in SLE: An immunogenetic relationship with HLA, C4 and BF alleles. *Clin. Exp. Immunol.*, 63: 419-427, 1985.
159. WARLOW, R.S.; UKO, G.; FEENEY, D.J.; KAY, P.H. HLA, C4, BF, Gm and Auto antibodies in Rheumatoid Arthritis. *Expl. Clin. Immunogenet.*, 5: 133-142, 1988.
160. WEIDINGER, S.; SCHWARZFISCHER, F.; CLEVE, H. Properdin factor B polymorphism. An indication for existence of a BF allele. *Z. Rechtsmed.*, 83: 259-264, 1979.

- 161.WEST, C.D. The Complement Profile in Clinical Medicine. **Complement Inflamm.**, 6: 49-64, 1989.
- 162.WHITE, D.G.; WOOLF, A.D.; MORTIMER, P.P. Human parvovirus arthropathy. **Lancet**, 1: 419-421, 1985.
- 163.WHITEHEAD, A.S.; SOLOMON, E.; CHAMBERGS, S.; BUDMER, W.F.; POVEY, S.; FEY, G. Assignment of the structural gene for the third component of human complement to chromosome 19. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 79: 5021-5025, 1982.
- 164.WILLIAMS, L.W.; BURKS, A.W.; STEELE, R.W. Complement function and clinical relevance. **Ann. Allergy**, 60: 293-301, 1988.
- 165.WINCHESTER, R.J. Genetic aspects of Rheumatoid Arthritis. **Springer Semin. Immunopathol.**, 4: 89-102, 1981.
- 166.WOODROW, J.C.; NICHOL, F.E.; ZAPHIROPOULOS, G. DR antigens and rheumatoid arthritis: a study of two populations. **Br. Med. J.**, 283: 1287-1288, 1981.
- 167.YU, C.Y.; BELT, K.T.; GILES, C.M.; CAMPBELL, R.D.; PORTER, R.R. Structural basis of the polymorphism of human complement components C4A and C4B: gene size, reactivity and antigenicity. **EMBO. J.**, 5: 2873-2881, 1986.
- 168.ZHAO, T.M. Genetic polymorphism of C3 and BF in the Chinese population. **Hum. Hered.**, 33: 36-38, 1983.
- 169.ZIFF, M. Relation of cellular infiltration of rheumatoid synovial membrane to its immune response. **Arthritis Rheum.**, 17: 313-319, 1974.
- 170.ZILKO, P.J.; FEENEY, D.; CHRISTIANSEN, F.T.; HAWKINS, B.R.; DAWKINS, R.L. HLA and Gm Typing in families with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, 23: 767, 1980.
- 171.ZVAIFLER, N.J. The immunopathology of joint inflammation in rheumatoid arthritis. **Adv. Immunol.**, 16: 265, 1973.